



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**PROPIEDADES ESPUMANTES DE LA LECHE
DESCREMADA EN POLVO REFORZADAS CON
CASEINATO DE SODIO Y CONCENTRADO DE
SUERO DE LECHE**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

**PRESENTA:
VERÓNICA GARCÍA MENA**

**ASESORES:
DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA
IBQ. NORMA BEATRIZ CASAS ALENCÁSTER**

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatorias y Agradecimientos

A Dios, por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi vida y lograr mi meta.

A mis padres y hermanas, por su amor, cariño, comprensión, compañía y apoyo incondicional, en todo momento los tengo presente.

A mis asesoras, gracias por el tiempo que me dedicaron y la paciencia para revisar este trabajo.

A mis profesores, por enseñarme que con dedicación, esfuerzo y perseverancia se pueden alcanzar los objetivos que nos proponemos. Su ejemplo de profesionalidad nunca lo he de olvidar.

A mis amigas y compañeros, por compartir conmigo tantas experiencias, desveladas y triunfos.

Gracias por su apoyo incondicional a todos aquellos que hicieron posible la elaboración de este trabajo.

Verónica García Mena

Índice

	página
Introducción	1
Capítulo 1. Antecedentes	
1.1 Espumas	
1.1.1 Clasificación	3
1.1.2 Métodos de preparación de espumas	3
1.1.3 Formación de una espuma	4
1.1.4 Estructura de las espumas	5
1.1.5 Mecanismos de desestabilización	5
1.1.6 Fenómenos estáticos y dinámicos	8
1.1.7 Propiedades dilatacionales	8
1.1.8 Propiedades fisicoquímicas de las espumas	11
1.2 Proteínas	
1.2.1 Propiedades funcionales	13
1.2.2 Propiedades espumantes de las proteínas	14
1.2.2.1 Cinética de adsorción de proteínas	14
1.2.2.2 Factores intrínsecos	21
1.2.2.3 Factores extrínsecos	24
1.3 Leche descremada en polvo	
1.3.1 Definición	26
1.3.2 Proceso de elaboración	27
1.3.3 Propiedades fisicoquímicas	27
1.3.4 Proteínas de la leche	28
1.4 Caseinato de sodio	
1.4.1 Proceso de elaboración	28
1.4.2 Composición	29
1.4.3 Estructura	29
1.4.4 Propiedades de las caseínas	30
1.4.5 Adsorción en la interfase	31
1.5 Concentrado de suero de leche	
1.5.1 Proceso de elaboración	32
1.5.2 Composición	32
1.5.3 Estructura	33
1.5.4 Propiedades de las proteínas del suero de leche	34
1.5.5 Adsorción en la interfase	35
Capítulo 2. Metodología de investigación	
2.1 Objetivo general	36
2.1.1 Objetivos particulares	36
2.2 Materiales	37
2.3 Actividad preliminar	37
2.4 Propiedades de la fase Continua	
2.4.1 Densidad	38
2.4.2 pH	39
2.4.3 Viscosidad	40
2.4.4 Tensión superficial	41

2.5	Propiedades de las espumas	
2.5.1	Densidad de las espumas	42
2.5.2	Diámetro de las burbujas	43
2.5.3	Drenado en copas de estabilidad	43
2.5.4	Estabilidad a través de dispersión de luz	44
2.6	Análisis estadístico	45
Capítulo 3. Resultados y análisis de resultados		
3.1	Actividad preliminar	46
3.2	Propiedades de la fase continua	
3.2.1	Densidad	48
3.2.2	pH	49
3.2.3	Viscosidad	51
3.2.4	Tensión superficial	53
3.3	Propiedades espumantes	
3.3.1	Capacidad espumante o rendimiento	59
3.3.2	Densidad de las espumas	61
3.3.3	Diámetro de las burbujas	63
3.3.4	Drenado en copas de estabilidad	69
3.3.5	Estabilidad a través de dispersión de luz	73
Conclusiones		82
Recomendaciones		84
Referencias		85

Índice de Figuras

Capítulo 1. Figuras		Pág.
1.1.	Representación esquemática de la formación de la espuma	4
1.2.	Estructura idealizada de una espuma	5
1.3.	Fenómeno del drenaje en una espuma	6
1.4.	Maduración de Ostwald	7
1.5.	Efecto Gibbs-Marangoni	9
1.6.	Periodos de la cinética de adsorción dinámico de las proteínas	15
1.7.	Cinética de adsorción de las proteínas (a) Transporte hacia la interfase (b) Periodo de penetración (c) Reorganización	16
1.8.	Formación de la monocapa.	16
1.9.	Esquemización de la adsorción y desorción de las proteínas	17
1.10.	Configuraciones de los polipéptidos en la interfase	18
1.11.	Formación de micelas por moléculas anfifílicas al saturarse la interfase	19
1.12.	Esquemización del proceso de gelificación de proteínas globulares en la interfase aire-agua en el periodo de saturación	21
1.13.	Representación esquemática de la distribución de los grupos hidrófobos e hidrófilos	23
1.14.	Esquemización de la distribución de cargas	23
1.15.	Estructura de la β -caseína	30
1.16.	Adsorción del caseinato de sodio	31
1.17.	Estructura de la β -lactoglobulina.	33
1.18.	Adsorción del concentrado del suero de proteína	35
Capítulo 2. Figuras		
2.1.	Batidora planetaria	38
2.2.	Densímetro digital	39
2.3.	Viscosímetro de Ostwald.	40
2.4.	Gota pendiente	42
2.5.	Copas de estabilidad	43
Capítulo 3. Figuras		
3.1.	Efecto de la velocidad y tiempo de batido en la capacidad espumante de la leche descremada (LD) y reforzadas con caseinato de sodio, (Cas-Na) y concentrado de suero de leche, (WPC).	47
3.2.	Tensión superficial dinámica en la interfase aire-agua, a pH natural.	54
3.3.	Cinética de adsorción en la interfase aire-agua en un caso ideal	55
3.4.	Cinética de adsorción en la interfase aire-agua a pH natural (a) Leche descremada 10 y 25% (b) Soluciones proteínicas LD10%-WPC 5 y 15% y (c) Mezcla de LD10%-Cas-Na1%	55
3.5.	Evolución de la tensión superficial en función del inverso de la raíz cuadrada del tiempo, (a) LD, (b) LD10-WPC y (c) LD10-Cas-Na	57
3.6.	Capacidad espumante en función de la concentración de (a) LD (b) LD10-WPC y (c) LD10-Cas-Na	59

3.7.	Relación de la densidad de las espumas con la capacidad espumante	63
3.8.	Diámetro de las burbujas de las espumas preparadas (a)LD, (b) LD-WPC y (c) LD-Cas-Na	64
3.9.	Efecto de la maduración de Ostwald en el tamaño de las burbujas, tamaño inicial (izquierda) después de 7 minutos (derecha) (a) LD10%, (b) LD15%, (c) LD20% y (d) LD25%.	66
3.10.	Efecto de la maduración de Ostwald en el tamaño de las burbujas, tamaño inicial (izquierda) después de 7 minutos (derecha): (a) LD10%-WPC5%, (b) LD10%-WPC7.5%, (c) LD10%-WPC10%, (d) LD10%-WPC12.5% y (e) LD10%-WPC15%.	67
3.11.	Efecto de la maduración de Ostwald en el tamaño de las burbujas, tamaño inicial (izquierda) después de 7 minutos (derecha): (a) LD10%-Cas-Na1%, (b) LD10%-Cas-Na2%, (c) LD10%-Cas-Na3%, (d) LD10%-Cas-Na 4% y (e) LD10%-Cas-Na5%.	68
3.12.	Curvas de drenado de las espumas preparadas a diferentes concentraciones con: (a) Leche descrema, (b) LD10% con concentrado de proteína del suero de leche, y (c) LD10% con caseinato de sodio. Símbolo sólido (experimental), línea continua (ajuste) al modelo sigmoidal	70
3.13.	Transmisión y retrodispersión de la espuma a base de leche descremada al 25%.	74
3.14.	Transmisión y retrodispersión de la espuma a base de leche descremada 10% y concentrado del suero de la leche 15%.	74
3.15.	Transmisión y retrodispersión de la espuma a base de leche descremada 10% reforzada con caseinato de sodio 1%.	75
3.16.	Cinética de drenado a) leche descremada, b) LD10% con caseinato de sodio, obtenidas del Turbiscan, MA2000	77
3.17.	Cinética de drenado de LD10% con concentrado de suero de leche, obtenidas del Turbiscan, MA2000	79

Índice de Cuadros

Capítulo 1. Cuadros	Pág.	
1.1.	Clasificación de las espumas	3
1.2.	Parámetros de las espumas	11
1.3.	Propiedades funcionales de las proteínas	13
1.4.	Especificaciones sensoriales	26
1.5.	Especificaciones químicas	26
1.6.	Propiedades fisicoquímicas	27
1.7.	Viscosidad de la leche descremada (mPa·s)	27
1.8.	Clasificación de las proteínas de la leche descremada	28
1.9.	Composición de aminoácidos de las principales caseínas	29
1.10.	Propiedades de las fracciones del caseinato	30
1.11.	Composición de aminoácidos de las proteínas del suero de leche	33
1.12.	Propiedades de las proteínas del suero de leche	34

Capítulo 3. Cuadros	Pág.
3.1. Efecto de la concentración de proteína y tipo de agente espumante en la densidad de la fase continua	48
3.2. Efecto de la concentración de proteína y tipo de agente espumante en el pH de la fase continua	49
3.3. Efecto de la concentración y tipo de agente espumante en la viscosidad de la fase continua	51
3.4. Efecto de la concentración y tipo de agente espumante en la densidad de las espumas	62
3.5. Efecto de la concentración y tipo de agente espumante, en los parámetros del modelo sigmoideal, para el drenado de líquido	71
3.6. Velocidades de los mecanismos de desestabilización de las espumas de leche descremada	77
3.7. Velocidades de los mecanismos de desestabilización de las espumas reforzadas con caseinato de sodio	78
3.8. Parámetros obtenidos de las cinética de drenado para las espumas a base de LD10% y concentrado del suero de la leche	80
3.9. Parámetros obtenidos de las cinética de maduración de Ostwald para las espumas a base de LD10% y concentrado del suero de la leche	80

Resumen

En la elaboración de alimentos aireados es frecuente la utilización de proteínas lácteas como espumantes. La formación de espumas de proteínas es determinada por la composición, estructura, carga superficial e hidrofobicidad. Las diferencias estructurales entre las proteínas de la leche con propiedades espumantes determinan su desempeño durante la formación de la espuma, su crecimiento, estabilidad, reología y textura. El objetivo de este proyecto fue estudiar el efecto reforzante del caseinato de sodio (Cas-Na) y concentrado de suero de leche (por sus siglas en inglés, WPC), sobre las propiedades espumantes de la leche descremada (LD).

Se determinaron la densidad y la viscosidad de las muestras de estudio así como su pH. La densidad y viscosidad aumentaron al incrementar la concentración de proteína, mientras que el pH disminuyó ligeramente.

Se determinó la tensión superficial de equilibrio (γ_{eq}) de las muestras estudiadas, se encontró entre 41 mN/m (LD10%-Cas-Na) y 49 mN/m (LD 10%), y en general al aumentar la concentración, la γ_{eq} disminuyó, siendo la muestra de caseinato de sodio adicionado la que presentó una menor tensión superficial de equilibrio.

La capacidad espumante aumentó al incrementar la concentración de proteína y tuvo un mayor efecto en las espumas reforzadas con caseinato de sodio (642-1422%), en comparación a las espumas adicionadas con concentrado de suero de leche (380-534%). Caso contrario a la densidad de las espumas, ya que ésta disminuyó al aumentar la concentración de proteína.

La estabilidad de las espumas como medida de los fenómenos de desestabilización (drenado, maduración de Ostwald y colapso), se determinó mediante: (1) microscopía obteniendo diámetros de inicio y después de 7 minutos, (2) volumen de líquido drenado en función del tiempo y (3) mediante un método de dispersión de luz. En general, se obtuvo mayor estabilidad en las espumas reforzadas con WPC; menores diámetros de burbuja, menos drenado y mayor tiempo para alcanzar el máximo volumen de líquido drenado (18-40 min). En cambio, la estabilidad de las espumas adicionadas con Cas-Na, disminuyó al aumentar la concentración, el fenómeno que predominó fue la difusión de aire de las burbujas chicas a las grandes. La estabilidad medida a través de la dispersión de luz permitió identificar el drenado de líquido, la maduración de Ostwald y el colapso de la espuma. Las cinéticas de espesor absoluto en función del tiempo se ajustaron a diferentes modelos. En el caso de la LD y las espumas reforzadas con Cas-Na se ajustaron a un modelo lineal y se obtuvieron velocidades, siendo altas a mayor concentración. En cambio, las espumas de leche reforzadas con WPC, se ajustaron a un modelo logarítmico, del que se calculó el tiempo de inicio del fenómeno (drenado o difusión de gas); estos tiempos se incrementaron al aumentar la concentración de WPC, lo que indicó un incremento de la estabilidad.

Introducción

Las espumas son sistemas dispersos en los cuales el gas se dispersa en una fase líquida continua. La fase dispersa se llama algunas veces fase interna y la fase continua se conoce como la fase externa (Schramm, 2005). Las espumas líquidas generalmente se dividen en: las de corto tiempo de vida, es decir, la estabilidad no importa tanto ya que se consumen rápido; por ejemplo, la espuma de la cerveza, de malteadas, del capuccino, entre otros; y aquellas en que la estabilidad juega el papel importante por ejemplo el mousse, merengue, helado, crema batida, soufflés, malvaviscos, entre otros (Cox, et al., 2009; Duncan, 1992).

La formación y estabilidad de espumas es un proceso que se debe estudiar, debido a que es común en la elaboración de alimentos, ya que presentan varias ventajas como:

- Los alimentos aireados (espumas) son económicos y se venden a precios debido a que se aumenta el volumen y disminuye la densidad.
- Cambia la textura de las espumas, esto se debe a la dispersión de burbujas pequeñas y a la formación de una película delgada en la interfase gas-líquido, haciéndolos más ligeros y suaves al paladar.
- Favorece la digestibilidad ya que las proteínas en cierta forma se desnaturalizan haciendo su estructura más sencilla y fácil de digerir.

Generalmente en la industria de alimentos se utilizan como agentes espumantes a las proteínas lácteas, ya que, al disminuir su energía libre migran espontáneamente hacia la interfase y se adsorben. El proceso de adsorción consiste en: (1) adsorción en la interfase aire-agua, lo que provoca la disminución de la tensión superficial (2) las proteínas al desnaturalizarse parcialmente en la interfase orientan a los grupos hidrofílicos (polar) e hidrofóbicos (no polar) en la fase acuosa y no acuosa respectivamente y (3) la formación de una película debido a las interacciones de las proteínas parcialmente desnaturalizadas (Borcherding et al., 2008 (a)).

La formación de espumas a base de proteínas lácteas, está determinada por factores intrínsecos como la secuencia de aminoácidos, la estructura secundaria y terciaria, la hidrofobicidad, el carácter de la superficie de la proteína, el peso molecular, la flexibilidad de la proteína, la

carga y la distribución de la misma; y factores extrínsecos como la concentración, pH, fuerza iónica, temperatura y la interacción con otros ingredientes (Abascal y Gracia-Fadrique, 2009, Borcharding et al., 2008 (a); Pérez et al., 2009; Zhang et al., 2004).

Las espumas, al igual que las emulsiones están sujetas a procesos de desestabilización y los mecanismos que más afectan a la estabilidad son: la maduración de Ostwald o desproporción, drenado y colapso (Salger, 1999). Por ello, su determinación es punto clave en el estudio de estabilidad de espumas a base de proteínas lácteas.

Investigaciones recientes han desarrollado modelos que describen el efecto de las proteínas en la estabilidad de las espumas. De igual manera en espumas lácteas, reportan que la β -caseína se adsorbe más rápidamente en la interfase aire-agua debido a su estructura flexible y alta actividad superficial; mientras que las proteínas globulares como la β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina se adsorben más lentamente (Carrera y Rodríguez, 2005).

Las proteínas lácteas son comúnmente usadas como fracciones proteínicas aisladas en la elaboración de diversos productos aireados. Por lo tanto se decidió estudiar un sistema más complejo, es decir, en mezclas (leche descremada con concentrado de suero de leche y leche descremada con caseinato de sodio), con el fin de identificar las ventajas que proporcionan la mezcla de los derivados lácteos, para proporcionar nuevas opciones a los productores de este tipo de productos.

Capítulo 1. Antecedentes

1.1 Espumas

Una espuma es una dispersión, en la cual las burbujas de gas son dispersadas en la fase líquida continua (Schramm, 2005). Debido a la gran cantidad de superficie libre que presentan, la energía superficial es alta dando a lugar a un sistema termodinámicamente inestable (Dickinson y Dements, 1995).

1.1.1 Clasificación

Existen diversas formas de clasificar a las espumas, sin embargo para fines prácticos se clasifican en dos tipos, en el Cuadro 1.1 se pueden observar sus características.

Cuadro 1.1. Clasificación de las espumas.

	Espumas diluidas	Espumas concentradas
Características	Las burbujas suelen tener forma esférica La tensión superficial es alta La fracción del gas es baja La estabilidad suele ser baja La pared que separa las burbujas es gruesa Las burbujas son grandes	Las burbujas toman la forma poliédrica La tensión superficial es baja La fracción del gas es alta La estabilidad suele ser alta La pared que separa las burbujas suele ser delgada Las burbujas son pequeñas
Vida de anaquel	Corto	Largo
Ejemplo de alimentos	Cerveza Capuccino Malteada Licuado	Mousse Merengues Helados

Fuente: Cox et al., 2009; Duncan, 1992; Eisner et al., 2007.

1.1.2 Métodos de preparación de espumas

En la actualidad existen diversos métodos de preparación de una espuma, algunos de ellos pueden ser muy complejos y otros fáciles; algunos ejemplos de ellos son:

- Mezclado turbulento: es uno de los métodos más comunes para la formación de espumas alimenticias, se introduce aire al líquido por medio de la agitación continua, predominando las fuerzas de cizalla y consiguiendo una dispersión más uniforme del gas (Cheftel et al., 1989), normalmente se realiza por medio de una batidora, un mezclador con agitador o una licuadora, entre otros.

- Reducción de presión: se reduce de repente la presión en una solución de gas disuelto, causando una rápida nucleación y el crecimiento de las burbujas de gas dentro de la solución (Schramm, 2005).
- Inyección de gas: se inyecta directamente el gas en el líquido por medio de un generador de espuma, que utilice la caída de presión, turbulencia o flujo constante que cause la formación y subdivisión de las burbujas (Fennema, 2000). Cabe mencionar que las burbujas suelen ser grandes.

1.1.3 Formación de una espuma

En la formación de espuma se pueden distinguir las siguientes fases:

1. Formación de burbujas. Inicialmente el gas se introduce y comienza a dispersarse dentro del líquido (por algunos de los métodos que ya se mencionaron), formando burbujas que tienen forma esférica (Figura 1.1 a), pero en esta forma sólo duran algunos minutos.

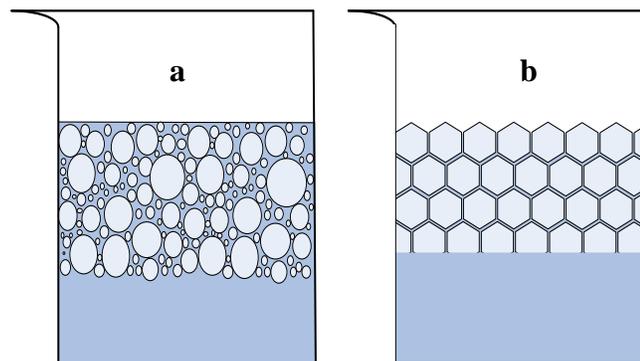


Figura 1.1. Representación esquemática de la formación de la espuma a) Burbujas esféricas y b) Burbujas poliédricas (Norde, 2003).

2. Reacomodo a burbujas poliédricas. Debido a la fuerzas más intensas que predominan en los métodos de preparación de espumas se forman más burbujas de gas, provocando que haya una deformación por compresión, es decir, que pasen de burbujas esférica a poliédricas regulares apiladas (Figura 1.1 b) haciendo que las películas intra-burbujas se comporten como películas planas de un espesor pequeño (Lewis, 1993); dando así una menor área interfacial entre la fase dispersa y la continua (Norde, 2003), provocando que las espumas sean inestables.

1.1.4 Estructura de las espumas

La estructura tridimensional de las espumas es compleja, por ello se limita el estudio al modelo en dos dimensiones. En la Figura 1.2 se muestra la estructura idealizada de una espuma; ésta consta de burbujas de gas separadas por una delgada película de líquido; a la región que rodea la película delgada se le suele llamar lamela (Schramm, 2005); cuando se juntan tres lamelas siempre forman un ángulo de 120° (llamado ángulo de Steiner) y el borde de éstas se les conoce como borde de Plateau.

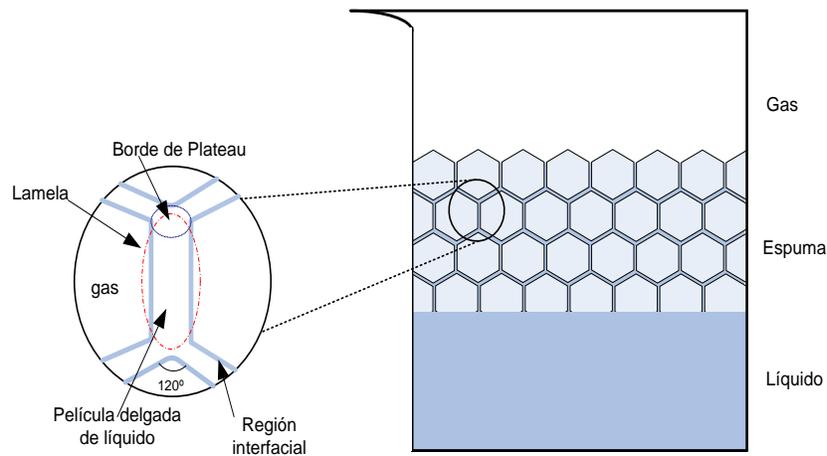


Figura 1.2. Estructura idealizada de una espuma (Schramm, 2005).

1.1.5 Mecanismos de desestabilización

Existen básicamente tres mecanismos que desestabilizan una espuma, esto es, sobre todo por el adelgazamiento de la película que separa las burbujas de gas, por lo tanto el conocimiento de ellos es importante para prevenirla y aumentar la vida de la espuma; a continuación se mencionan:

- *Drenado por acción de la gravedad*

Como ya se mencionó anteriormente después de unos segundos de haberse formado las burbujas se amontonan unas sobre otras y en este proceso se forman películas entre las burbujas, inicialmente gruesas, por lo que el drenado da lugar (Duncan, 1992). Debido a ello la porción de líquido que constituye la película disminuye adelgazándola y es indispensable que ellas no se rompan (Salger, 1999). Sin embargo, suele presentarse en toda la vida de la espuma.

- *Drenado del líquido por succión capilar*

El drenado de la espuma es un proceso fisicoquímico hidrodinámico gobernado por factores simultáneos como: a) el espesor de la película, (espesor crítico 5 - 10 nm) (Rodríguez, 2008); b) la tensión superficial, ya que si ésta es muy alta va a tender a aumentar el drenado y c) el radio y la curvatura de la bordes de Plateau (Indrawati et al., 2008; Narsimhan, 1990), entre otros.

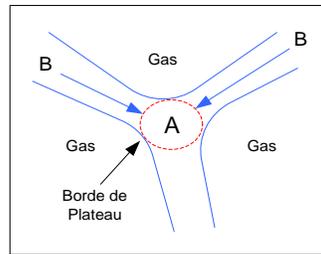


Figura 1.3. Fenómeno del drenaje en una espuma (Lewis, 1993).

Cuando tres lamelas se someten a fuerzas de estiramiento continuo, éstas suelen unirse demasiado formando superficies cóncavas como las que se observan en la Figura 1.3. Debido a estas curvaturas la presión que se ejerce en A es menor que la que se ejerce en B, por ello hay una tendencia del líquido a fluir hacia este punto (borde de Plateau) originando el adelgazamiento de la película, a este fenómeno se le denomina drenado del líquido o escurrimiento (Lewis, 1993) y es uno de los mecanismos más comunes de la desestabilización de las espumas. La velocidad de drenado en películas planas paralelas está dada por la ecuación de Reynolds (ecuación 1.1):

$$V_{drenado} = \frac{2\Delta p(x_f^3)}{3\mu R_f^2} \quad (1.1)$$

Donde x_f es el espesor de la película, R_f es el radio de la película que es igual a $0.808R$ (R radio de la burbuja) y μ es la viscosidad del líquido de la película y Δp igual a $(\gamma/r) - \Pi$ que es la relación de la tensión superficial y el radio de la curvatura de los bordes de Plateau menos la presión de disyunción, sin embargo calcularla es muy complicado ya que es difícil determinar la presión de disyunción

Cuando el espesor de una región que separa las fases (película) se hace comparable a la de las regiones interfaciales que la limitan, la película pierde sus propiedades originales y es necesario un trabajo para mantener la película. Así pues, para mantener un espesor constante

tras la superposición de dos regiones interfaciales es necesaria la aplicación de una fuerza externa positiva o negativa. Estas interacciones se pueden cuantificar como un exceso de presión en función del espesor de la película, a esta relación se le denomina isoterma de presión de disyunción (Maldonado, 2006; Narsimhan, 1990). De esta forma la presión de disyunción puede ser expresada como la derivada de las interacciones con respecto al espesor de la película a presión, temperatura, área y número de moles constantes.

- *Maduración de Ostwald*

La presión en las burbujas pequeñas es mayor que en las burbujas grandes, a causa de ello, empieza la difusión del gas entre las burbujas a través de los poros que se abren, esto ocasiona que las burbujas sean más grandes (Figura 1.4); a este mecanismo se le conoce como maduración de Ostwald, y se presenta más rápido en la parte superior de la espuma debido a que la difusión se da con la atmósfera (Fennema, 2000), es decir a la evaporación del agua de la película que separa a las burbujas. Al aumentar de tamaño, las burbujas incrementan la curvatura en los bordes de Plateau lo que provoca el drenado del líquido.

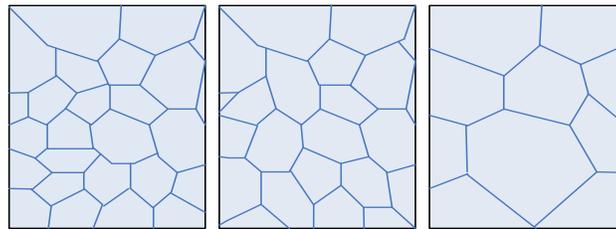


Figura 1.4. Maduración de Ostwald (Salger, 1999).

Para evitar este mecanismo es necesario la introducción de un agente espumante, se ha identificado que los que tienen el menor tamaño del grupo hidrófilo producen poros más pequeños al igual que los de cadena larga (Rodríguez, 2008) y también reduciendo la velocidad con la que se difunde el gas en la película que rodea a la burbuja.

- *Colapso*

Debido a la disminución del espesor de la película (esencialmente por el drenado) se produce la ruptura de la misma, lo que hace que se pronuncie la difusión del aire aumentando de tamaño las burbujas y destruyendo la estructura de la espuma. Por lo tanto, los fenómenos son interdependientes.

1.1.6 Fenómenos estáticos y dinámicos

Cuando se tienen películas con espesor muy pequeño menor a 200 Å (Salger, 1999), entonces empiezan a ocurrir interacciones coloidales que facilitan el adelgazamiento de la película y en consecuencia ayudan a la destrucción de la espuma; a continuación se mencionan:

- *Fenómenos estáticos*

Cuando hay un estiramiento de la película que rodea a la burbuja entonces empiezan a ocurrir interacciones de van der Waals atractivas entre las lamelas, por lo que se aumenta el drenado. Con la presencia de electrolitos disminuye la distancia de repulsión acelerando la velocidad con la que se drena el líquido.

- *Fenómenos dinámicos*

La estabilidad de una dispersión depende de la existencia de una capa de carga eléctrica en la superficie, ésta atrae iones de electrolito de carga opuesta, que forman una atmósfera iónica móvil. El resultado es una doble capa eléctrica, consistente en un armazón interno de cargas fijas con una atmósfera móvil exterior. La energía potencial entre dos partículas depende de la interacción repulsiva entre las capas dobles y de la interacción atractiva debido a las fuerzas de van der Waals entre las partículas (Salger, 1999). Como consecuencia del potencial de flujo, el drenaje del fluido de la película situada entre dos burbujas que se acercan, está retardado, y todo pasa como si el fluido fuera más viscoso.

1.1.7 Propiedades dilatacionales

La estabilidad de una espuma, como se ha mencionado, depende del adelgazamiento de la película, por lo tanto conocer las propiedades de ésta es clave para evitar los mecanismos de desestabilización.

Existen diversas propiedades interfaciales o superficiales, sin embargo para fines de este estudio las que más influyen en la estabilidad de las espumas lácteas son las propiedades dilatacionales que incluyen el módulo dilatacional y sus componentes elásticos y viscosos; pero no se lograría entender del todo sin antes explicar el efecto Gibbs- Marangoni, que es un fenómeno adicional a los antes mencionados (Maldonado, 2006).

a) Efecto Gibbs-Marangoni

Si una película se somete a perturbaciones (por ejemplo estiramiento), se produce un incremento del área interfacial y en consecuencia existe una disminución de la concentración en exceso de la proteína (Figura 1.5) y por lo tanto aumenta la tensión interfacial, a esto se le conoce como el efecto de Gibbs. Para alcanzar de nuevo el equilibrio de la tensión interfacial tiene que pasar un tiempo en donde la interfase y el seno de la disolución se contraen para contrarrestar la perturbación a ello se le conoce como efecto Marangoni (Maldonado, 2006; Duncan, 1992).

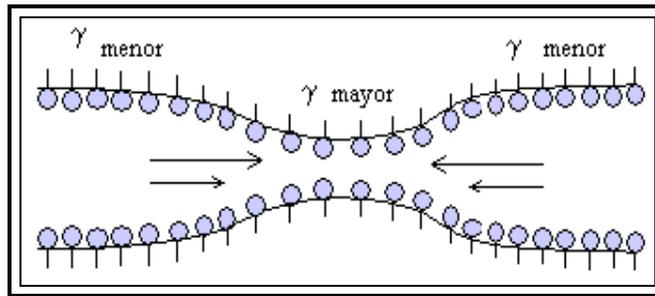


Figura 1.5. Efecto Gibbs-Marangoni (Duncan, 1992).

b) Módulo dilatacional superficial

Para cuantificar el efecto Gibbs-Marangoni, es decir, el incremento de la tensión interfacial debido a perturbaciones, es necesario conocer la definición de elasticidad de Gibbs (ε), la cual relaciona el cambio en la tensión interfacial por unidad de cambio del área interfacial, como se muestra en la ecuación 1.2 (German, 1990):

$$\varepsilon = \frac{d\gamma}{d \ln A} \quad (1.2)$$

Sin embargo, sólo se considera como si fuera totalmente elástico y frecuentemente la interfase suele tener comportamiento elástico y viscoso por lo que es necesario introducir este último término en la definición, así es como aparece el módulo dilatacional superficial.

El módulo dilatacional superficial se compone de una parte real (elasticidad) y otra imaginaria (viscosidad) (Rodríguez et al., 2002). Suele expresarse mediante la siguiente expresión (ecuación 1.3):

$$\varepsilon = \varepsilon_d + if\eta_d \quad (1.3)$$

Siendo ε_d la elasticidad dilatacional (mN/m), η_d es la viscosidad dilatacional (mN/m.s) y f es la frecuencia de oscilación en (1/s).

El módulo dilatacional se suele determinar a través de experimentos oscilatorios, los cuales consisten en someter una gota a una compresión y expansión sinusoidal controlada a la frecuencia y amplitud deseada.

Cabe mencionar que su evaluación es compleja debido a los fenómenos que afectan a la magnitud, por ello una manera más fácil de interpretarlo es evaluando por separado los componentes.

c) Componente elástico

Suele llamarse componente real o módulo de almacenamiento y proporciona información acerca de la resistencia a las perturbaciones, es decir, a la deformación. Puede expresarse de la siguiente forma (ecuación 1.4):

$$\varepsilon_d = |\varepsilon| \cos\phi \quad (1.4)$$

La definición del componente elástico está en relación al valor absoluto del módulo dilatacional ε , siendo éste el cambio de tensión interfacial ($\Delta\gamma$) entre el cambio en el área interfacial (ΔA), por el coseno del ángulo de fase (ϕ) entre el esfuerzo y la deformación (Rodríguez et al., 2002). Cuando se encuentra un máximo en el módulo elástico, quiere decir que hay un cambio estructural de la capa adsorbida y a partir de éste la elasticidad comienza a disminuir de acuerdo a la deformación producida.

d) Componente viscoso

Llamado componente imaginario o módulo de pérdida, cuando un material lo presenta indica que existen procesos de relajación (Maldonado, 2006), es decir, que hay un intercambio difusivo de las moléculas en la interfase con el seno de la disolución y, en macromoléculas como las proteínas, podría indicar una reorganización estructural o en caso extremo, módulo que se presentan fenómenos de coalescencia. Suele expresarse de la siguiente forma (ecuación 1.5):

$$\eta_d = \frac{|\varepsilon|}{f} \text{sen}\phi \quad (1.5)$$

En donde la frecuencia angular, $\phi = 2\pi f$, la cual se establece cuando una perturbación se impone en la interfase.

Con la evaluación de estos parámetros se puede entender como se comporta la proteína en la interfase, aunque la interpretación sea complicada. Por ello se recomienda evaluarlos por separado como ya se ha mencionado.

1.1.8 Propiedades fisicoquímicas de las espumas

Las espumas presentan diversas propiedades debido a su composición y estructura, todas ellas están relacionadas con la estabilidad de las mismas, por lo que es importante describirlas. A continuación se presentan algunos de sus parámetros (Cuadro 1.2):

Cuadro 1.2. Propiedades fisicoquímicas de las espumas.

Propiedad	Magnitud	Unidades
Diámetro de la burbuja	10^{-3}	m
Número de burbujas /m ³	10^9	m ⁻³
Tensión interfacial	0.04	N.m ⁻¹
Presión de Laplace	10^2	Pa
Diferencia de densidades	-10^3	kg. m ⁻³

Fuente: Fennema, 2000.

- Tamaño y distribución de las burbujas

El tamaño y la distribución de las burbujas en las espumas dependen de varios factores, entre ellos, las condiciones de formación de la espuma (como la velocidad con la que se introduce el aire, la temperatura, etc.) y las propiedades fisicoquímicas del surfactante. Es una propiedad importante ya que si las burbujas son grandes quiere decir que no es estable la espuma (Ramírez, 1996).

- La tensión superficial

Definida como la fuerza que se opone al aumento en el área del líquido (Castellan, 2000), es una de las propiedades que más influyen en la estabilidad de una espuma ya que está relacionada de manera inversa, es decir, para lograr una espuma estable es necesario disminuir la tensión superficial, esto se logra adicionando un agente espumante que ayuda al incremento del área interfacial, evitando los mecanismos de desestabilización.

- Presión de Laplace

La presión interna de las burbujas esta dada por la ecuación de presión capilar de Laplace (ecuación 1.6) (Salger, 1999).

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R} \quad (1.6)$$

donde, ΔP es la diferencia de presión entre las burbujas, γ es la tensión superficial (N·m⁻¹) y R es el radio de la curvatura de la burbuja. Cuando las burbujas son poliédricas, las películas se comportan como películas planas, pero a causa de la presión de Laplace las burbujas pequeñas

tienen una mayor presión. En consecuencia, existe un gradiente de presión de una parte y de la otra de una película, que induce la difusión gaseosa a través de ésta película

- Densidad

Al incorporar aire se produce una reducción proporcional de la densidad, lo que hace que el producto se haga más ligero y se favorece su digestión sin que se pierda su sabor (Ramírez, 1996).

1.2 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas que están compuestas por cadenas de diferentes aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos y cuya conformación dentro de la molécula se pueden clasificar en cuatro categorías:

- Primaria. Las secuencia de aminoácidos es lineal y se unen de forma covalentes, a través de enlaces amida conocidos también como enlaces peptídicos.
- Secundaria. En general se encuentran en dos formas de estructura secundaria periódicas: (a) las hélice- α es una estructura ordenada estabilizada por los puentes de hidrógeno que se orientan paralelamente al eje de la hélice, contiene 3.6 residuos de aminoácidos por giro de hélice (Fennema, 2000); (b) la estructura β , es una estructura en zig-zag más estirada que la hélice- α , estas cadenas estiradas se unen entre ellas por enlaces intermoleculares para formar estructuras llamadas hojas plegadas y es más estable que las hélices- α .
- Terciarias. Se logra cuando una cadena polipeptídica lineal, con segmentos provistos de estructuras secundarias, se pliegan sobre sí mismas para adquirir una forma tridimensional compacta (globular). En la mayoría de las proteínas globulares los aminoácidos hidrófobos tienden a colocarse hacia el interior y los aminoácidos polares en la superficie de la molécula (Cheftel et al., 1989). Si una proteína contiene un número elevado de restos hidrófilos, adoptará una forma larga o de varilla, en cambio, si tiene un número elevado de grupos hidrófobos, adoptará una forma globular (esférica).
- Cuaternaria. Esta estructura es el resultado de asociaciones no covalentes que contienen más de una cadena polipeptídica. Se trata fundamentalmente de interacciones no covalentes como puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas, interacciones electrostáticas y uniones disulfuro. La hemoglobina es una de las proteínas más comunes con estructura cuaternaria (Cheftel et al., 1989; Fennema, 2000).

1.2.1 Propiedades funcionales

Las proteínas son de los componentes que más funciones tienen en la elaboración de alimentos ya que por su característica de composición y configuración, proporcionan propiedades funcionales (Boatella, 2004) que podrían definirse como las propiedades fisicoquímicas que modifican las características de los alimentos y contribuyen a las propiedades sensoriales sobre todo a la textura. En el Cuadro 1.3 se resumen algunas de ellas.

Cuadro 1.3. Propiedades funcionales de las proteínas.

Interacción	Propiedad	Mecanismo	Conceptos relacionados
Fase continua (líquido) Proteína – Fase dispersa (gas)	Espumante	Adsorción en la interfase y formación de película	Formación de la espuma Estabilidad
Agua - Proteína - Aceite	Emulsificante	Adsorción y formación de la película en la interfase.	Procesos de desestabilización
Proteína - Agua	Solubilidad Retención de agua	Interacciones hidrófilas Puentes de hidrógeno Hidratación iónica	Hidratación Poder espesante Adhesión Viscosidad Cohesión
	Gelificación	Atrapamiento e inmovilización del agua Formación de una red tridimensional.	Fuerza Elasticidad Estabilidad Firmeza
Proteína-proteína	Texturización	Coagulación Formación de una película	Textura de alimentos
Proteína-volátiles	Fijación de aromas	Interacciones hidrofóbicas Atrapamiento Desnaturalización Enlaces covalentes	Sabor

Fuente: Boatella, 2004; Fennema, 2000.

Estas propiedades dependen a su vez de factores intrínsecos como por ejemplo la estructura de la molécula, la hidrofobicidad, la carga eléctrica, entre otras (Abascal y Gracia-Fadrique, 2009, Badui, 2006) y factores extrínsecos como el pH, la temperatura, la fuerza iónica y concentración. Por ello su conocimiento y estudio es importante para poder aplicarlas en diversos alimentos.

1.2.2 Propiedades espumantes de las proteínas

Cuando en un sistema disperso se tienen macromoléculas como por ejemplo las proteínas, éstas funcionan como surfactantes, es decir, como aquellos que ayudan a la formación y estabilización del sistema disperso (espuma), debido a que las proteínas al disminuir su energía libre migran espontáneamente hacia la interfase y se adsorben ya que son moléculas anfifílicas, es decir, contienen simultáneamente regiones no polares y polares, las cuales se orientan hacia la fase dispersa y hacia la fase acuosa, respectivamente (Borcherding et al., 2008 (a); Rouimi et al., 2005; Fennema, 2000).

Cuando se concentra la proteína en la interfase forma una película viscoelástica que hace que sea más estable el sistema disperso, sin embargo no sólo influye en la estabilidad las propiedades de la interfase, sino también influyen los fenómenos de desestabilización que ya se mencionaron.

En este estudio se abordan las espumas lácteas por lo que las propiedades funcionales de las proteínas que más importan son la capacidad de formación de espumas, propiedad que depende extraordinariamente de las propiedades superficiales y de la cinética de adsorción sobre la interfase aire-agua, que a continuación se revisarán.

1.2.2.1 Cinética de adsorción de proteínas

Como ya se mencionó las propiedades espumantes dependen de la cinética de adsorción, aunque es diferente para una proteína y para un surfactante de bajo peso molecular, se pueden utilizar las expresiones de partida para analizar la cinética de adsorción de las proteínas que tienen un comportamiento y estructura más compleja.

La cinética de adsorción de las proteínas en la interfase, es comúnmente estudiada en términos de la tensión interfacial entre las dos fases en función del tiempo o a través de los cambios en la presión superficial con respecto al tiempo (Beverung et al., 1999; López, 2007 y Maldonado, 2006). La presión superficial se define como la diferencia de la tensión superficial de un fluido puro (γ_0) y la tensión superficial o interfacial de la proteína en estudio en función del tiempo, $\pi = \gamma_0 - \gamma(t)$.

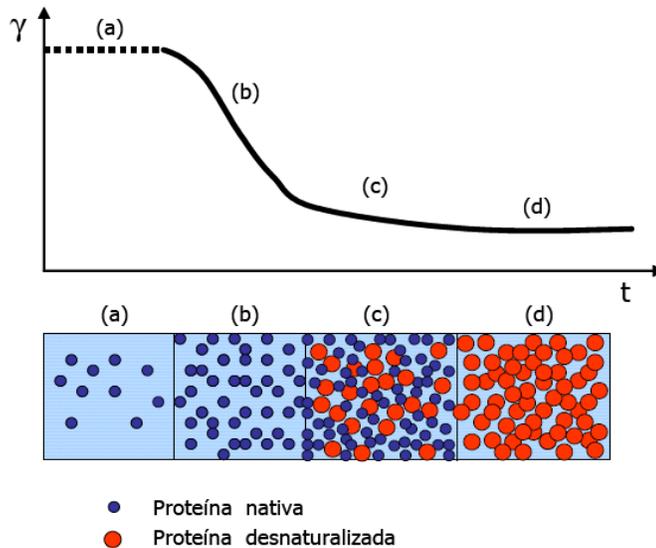


Figura 1.6. Periodos de la cinética de adsorción dinámico de las proteínas (Maldonado, 2006).

Normalmente al realizar las curvas de tensión superficial en función del tiempo se pueden distinguir tres etapas o regímenes, como se ilustra en la Figura 1.6. Primero la proteína se transporta hacia la interfase (a) a lo que se le denomina periodo o régimen de inducción, después la proteína se adsorbe en la interfase (b-c) se suele llamar periodo de penetración y finalmente el periodo de saturación (c-d), es decir, las moléculas se esparcen y ocupan un área interfacial en función del espacio disponible (Beverung et al., 1999; López, 2007 y Maldonado, 2006). A continuación se describen las características de cada uno de ellos.

1) Transporte de la proteína a la interfase o periodo de inducción

Generalmente el transporte de la proteína hacia la interfase se realiza por medio de difusión y/o convección en flujo laminar o turbulento (Figura 1.7a), por lo tanto, la velocidad con la que se transportan es igual a la velocidad con la que se difunden (Norde, 2003). La velocidad con la que se difunden las proteínas a la interfase depende de su estado conformacional en la solución, de su radio hidrodinámico y su peso molecular (Abascal y Gracia-Fadrique, 2009); considerando que durante esta etapa prevalecen las interacciones hidrofóbicas, la estructura nativa de las proteínas prevalece y ello conlleva a tener un periodo más largo (Maldonado, 2006; German, 1990).

De igual manera el periodo de inducción frecuentemente se observa en soluciones donde la concentración de proteína es baja, ya que a altas concentraciones la velocidad de difusión es

mayor por lo que requiere de menor tiempo para llegar a la interfase, y hay casos en los cuales la concentración es tan alta que el periodo es inexistente.

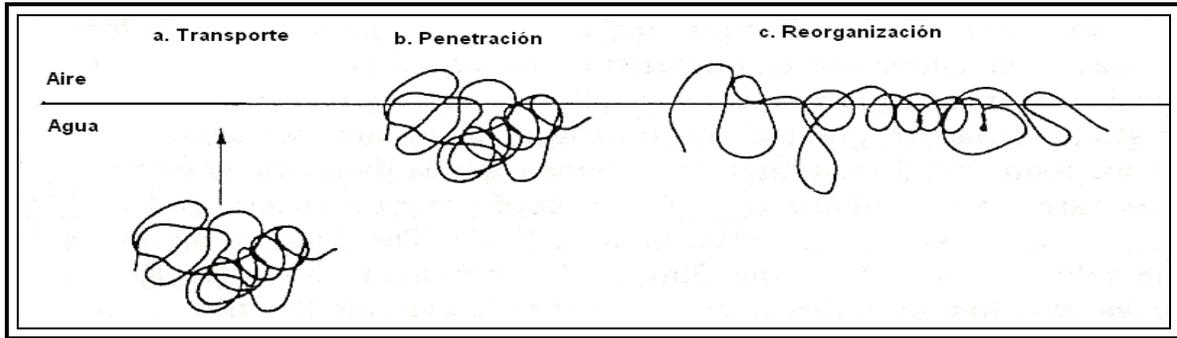


Figura 1.7. Cinética de adsorción de las proteínas (a) Transporte hacia la interfase (b) Periodo de penetración (c) Reorganización (Hartel, 1992).

Una forma de calcular el coeficiente de difusión y por lo tanto la velocidad de difusión es mediante la representación gráfica de presión superficial (π) frente a la raíz cuadrada del tiempo ($\theta^{1/2}$) la cual debe ser lineal, se obtiene el valor de la pendiente y de aquí el coeficiente difusivo (López, 2007) y la ordenada al origen es el valor al equilibrio.

2) Periodo de penetración

Una vez que las moléculas proteínicas han alcanzado la interfase, ésta va a comenzar a saturarse ya que las cabezas polares (parte de la molécula con carácter hidrófilo) y colas no polares (parte de la molécula con carácter hidrófobo) se orienta hacia el agua y hacia el aire respectivamente, formando una monocapa como se esquematiza en la Figura 1.8 (cabe mencionar que la imagen hace referencia a un surfactante de bajo peso molecular) (Battaner, 1993; Beverung et al., 1999). Esto hace que haya una rápida disminución en la tensión superficial por varios minutos hasta que se alcanza un equilibrio.

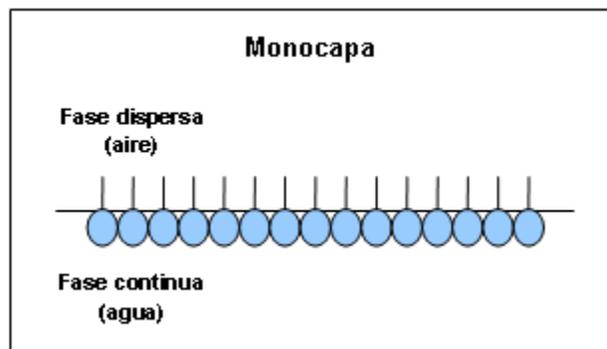


Figura 1.8. Formación de la monocapa. Las cabezas hidrófilas se orientan hacia el agua y las colas no polares hacia el aire (Battaner, 1993).

Sin embargo, en comparación con los surfactantes de bajo peso molecular, las proteínas tienen un reacomodo estructural al cual se le denomina “desnaturalización interfacial” (Figura 1.9) y afecta a la velocidad de desorción (k_{dp} menor), es decir, el proceso de desorción se hace más lento (Norde, 2003; Maldonado, 2006) ya que se optimizan las fuerzas de interacción entre la proteína y la interfase. Este fenómeno puede ser considerado el principio de la irreversibilidad del proceso de adsorción de las proteínas.

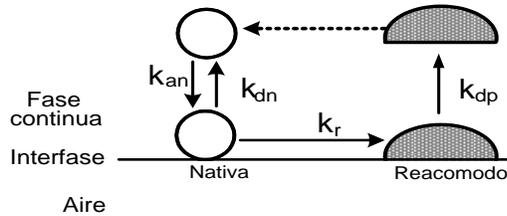


Figura 1.9. Esquematación de la adsorción y desorción de las proteínas (Norde, 2003).

Si predomina este periodo, es indicador de que hay mayores cambios conformacionales en la proteína, es decir un mayor reacomodo en la interfase.

En un polímero simple la velocidad de adsorción puede ser expresada por la ecuación 1.7:

$$\frac{d\Gamma}{dt} = \frac{c_b - c_{eq}(\theta)}{\frac{1}{k_{tr}} + \frac{1}{k_a(1-\theta)}} \quad (1.7)$$

donde c_b es la concentración del soluto en la solución y c_{eq} es la concentración en equilibrio del soluto, k_{tr} es la constante de velocidad de transporte que depende de las condiciones hidrodinámicas y del coeficiente de difusión y k_a es la constante de velocidad de adsorción y θ se define como $\Gamma/\Gamma_{m\acute{a}x}$. La concentración superficial $\Gamma = n/A$, es el número de moles por unidad de área. $\Gamma_{m\acute{a}x}$ es la concentración superficial en exceso adsorbida cuando la interfase es saturada con el surfactante (Norde, 2003).

El reacomodo en la estructura de la proteína en la interfase implica un aumento en el área interfacial por molécula adsorbida (Figura 1.9), por lo tanto, la velocidad de adsorción en este caso se puede expresar como (ecuación 1.8):

$$\frac{d\theta}{dt} = k_r \theta_n * f(a, \theta_n, \theta_p) - k_{dp} \theta_p \quad (1.8)$$

donde k_r es la constante de velocidad del reacomodo y la velocidad de adsorción y desorción se definen como: $\theta_n \equiv n_n/N_0$ y $\theta_p \equiv n_p/N_0$, es decir, el número de moléculas adsorbidas por el número máximo de moléculas por unidad de área ($N_0=aN$) y el incremento del área está

definido como $A_p/A_n \equiv a \geq 1$ (Norde, 2003). Suponiendo en un caso ideal que la velocidad de desorción cuando la molécula se reacomoda es menor que en forma nativa, que el incremento del área $a \geq 1$ y $\theta_n + \theta_p$ y se dé en un estado estacionario, se obtiene el siguiente modelo (ecuación 1.9).

$$k_{an}(1 - \theta_n - a\theta_p)c_{eq} = k_{dn}\theta_n + k_{dp}\theta_p \quad (1.9)$$

Sin embargo, calcular la velocidad de adsorción mediante estas ecuaciones es complicado, por lo que existen métodos que son más sencillos (López, 2007), como por ejemplo con una ecuación cinética de primero orden (ecuación 1.10):

$$\ln\left(\frac{\pi_\infty - \pi_\theta}{\pi_\infty - \pi_0}\right) = -ki * \theta \quad (1.10)$$

Donde π_∞ , π_0 y π_θ son respectivamente, las presiones superficiales en condiciones estacionarias, al tiempo $\theta=0$ y en cualquier tiempo, ki es la constante de la cinética de primer orden.

Para obtener la constante de la cinética de primer orden (ki), se representa en una grafica el $-\ln(\pi_\infty - \pi_\theta / \pi_\infty - \pi_0)$ en función del tiempo y la pendiente es la ki .

3) Reordenamiento o periodo de saturación

El régimen o etapa final consiste en el reordenamiento de las moléculas proteínicas en la interfase. En caso de surfactantes de bajo peso molecular o moléculas proteínicas pequeñas (como las caseínas), asumen las siguientes configuraciones: a) tren los cuales están directamente en contacto con la interfase, b) bucle los cuales están en contacto con la fase acuosa y c) cola segmentos de aminoácidos N- y C- terminales de la proteína (Figura 1.10), para el caso de proteínas globulares éstas permanecen casi con su estructura nativa, a menos que sean previamente desnaturalizadas (Fennema, 2000; Badui, 2006).

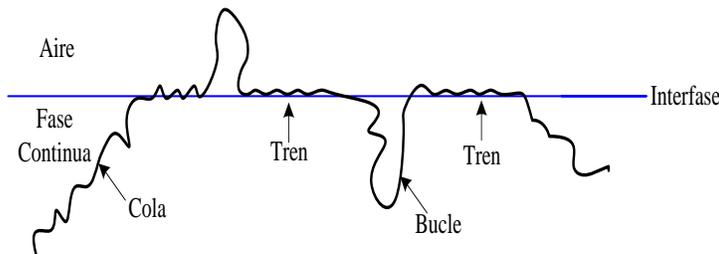


Figura 1.10. Configuraciones de los polipéptidos en la interfase (Fennema, 2000; Badui, 2006).

Este reacomodo provoca una lenta disminución en la tensión superficial, como se muestra en la Figura 1.6; sin embargo, existen otros dos fenómenos que contribuyen a la disminución de la tensión.

Cuando la interfase se satura hay continuos cambios en la conformación de la proteína en la misma, ésto provoca que las moléculas que quedan en la fase acuosa comiencen un proceso de agregación (formación de micelas), y a tiempos suficientemente largos promueven la formación de un gel viscoso (Beverung et al., 1999; Maldonado, 2006).

- *Fenómeno de agregación*

Cuando la interfase se encuentra totalmente saturada por las moléculas anfifílicas, es decir, que la monocapa esté bien constituida, la tensión superficial o interfacial prácticamente ya no variará y las moléculas que quedan en el seno de la solución recurren a una segunda alternativa energética, que consiste en la agregación espontánea o formación de micelas (Novelo-Torres y Gracia-Fadrique, 2005).

Una micela es una asociación de moléculas, donde los grupos polares quedan en contacto con el agua y las colas hidrófobas se reúnen en el interior adoptando la forma esférica (Maldonado, 2006). La formación de estas estructuras micelares ocurre a partir de una cierta concentración de moléculas anfifílicas disueltas que se denomina concentración micelar crítica (CMC) y ocurre simultáneamente en el momento de la saturación de la interfase cuando la tensión superficial o interfacial es mínima.

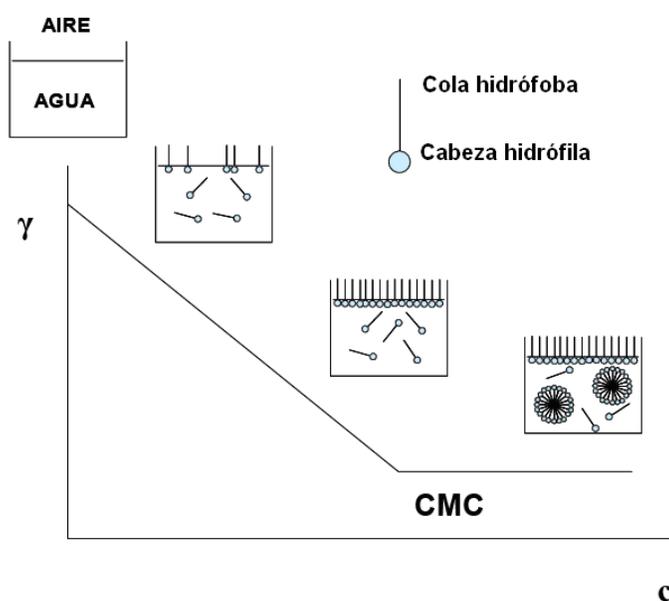


Figura 1.11. Formación de micelas por moléculas anfifílicas al saturarse la interfase (Maldonado, 2006).

Experimentalmente se puede determinar esta concentración a través de las curvas de tensión superficial o interfacial en función de la concentración de moléculas anfifílicas en el medio (Figura 1.11), pero existen otros métodos en donde se mide el punto de inflexión de alguna de las propiedades físicas de la superficie como la conductividad, la dispersión de luz, solubilización, (Novelo-Torres y Gracia-Fadrique, 2005; Fong, 2007) en función de la concentración de la proteína en la solución

Debajo de la CMC, la proteína permanece en la solución con su estructura nativa, sin embargo, cuando se excede esta concentración el número de micelas tiende a incrementar (McClements, 2005), pero no cambia la forma o tamaño de las micelas individuales. Debido a la formación de micelas se producen cambios en las propiedades fisicoquímicas de las moléculas anfifílicas ya que cuando tienen una estructura nativa, presentan una mayor actividad superficial en comparación de cuando es micela, dado a que su superficie está cubierta por las cabezas hidrófilas. Es por esta razón que la tensión superficial o interfacial disminuye con el incremento de las moléculas anfifílicas en la solución, pero permanece casi constante a concentraciones superiores a la CMC. Sin embargo la formación de micelas depende de ciertos factores que hace que incremente o disminuya, a continuación se mencionan los que más influyen:

- Hidrofobicidad

Esta propiedad influye considerablemente en la formación de micelas, ya que se conoce que aquellas moléculas anfifílicas que presentan una hidrofobicidad alta poseen una CMC baja, debido a que en ellas predominan la deshidratación y por lo tanto no hay buena interacción con el agua (McClements, 2005). Por ejemplo, las caseínas al tener una estructura flexible tienen más expuestos sus grupos hidrófobos en comparación con las proteínas globulares que son más compactas, lo que hace que sean más solubles y que por lo tanto tengan una CMC mayor.

- Temperatura

Altas temperaturas favorecen la desintegración de las micelas, lo que hace que aumente la CMC. Sin embargo, si la temperatura se disminuye hasta cierto punto conocido como el punto de Krafft la formación de micelas cesa, pero hay formación de precipitados formando una fase microscópica separada y sucede antes de alcanzar la CMC (Fong, 2007).

- *Fenómeno de gelificación interfacial*

Al exceder la concentración crítica comienzan a existir interacciones con los agregados adyacentes, es decir, las micelas interactúan entre sí, el resultado es un gel amorfo como la estructura de una red en la interfase, como se ilustra en la Figura 1.12 (Beverung et al., 1999).

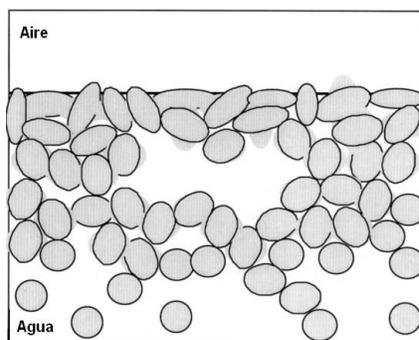


Figura 1.12. Esquematización del proceso de gelificación de proteínas globulares en la interfase aire-agua en el periodo de saturación (Beverung et al., 1999).

En soluciones donde la concentración micelar crítica no se excede, puede no existir agregación ni la formación de la red gelificante, sin embargo para soluciones concentradas es muy probable que ocurran estos fenómenos además de que puede existir la formación de multicapas.

1.2.2.2 Factores intrínsecos

La adsorción de la proteína en la interfase depende de varios factores intrínsecos como lo son:

a) Estructura de la proteína

La estructura juega un papel muy importante en la adsorción de proteínas, se conoce que las proteínas que más rápidamente se adsorben en la interfase aire-agua son aquellas que presentan estructura secundaria y primaria o sea flexible y alta actividad superficial como las caseínas: β -caseína, α_{s1} -caseína (Zhang et al., 2004; Hartel, 1992), mientras que las proteínas globulares como la lisozima, β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina se adsorben más lentamente. Sin embargo la estructura de las proteínas está estabilizada por diferentes tipos de interacciones. Para la adsorción de la proteína en la interfase, es necesario desestabilizar la estructura para que exponga sus grupos hidrófobos y haya una mejor unión con la fase

continua (aire), por lo tanto es necesario conocer los diferentes tipos de interacción, que se muestran a continuación:

- Interacciones de van der Waals

Las interacciones de van der Waals siempre ocurren en los sistemas dispersos, pero las que predominan son las de fuerza de dispersión (London-Van der Waals), las interacciones dipolares de orientación e inducción (Debye-Keelson-Van der Waals) (Norde, 2003). Aunque las fuerzas de van der Waals son extremadamente débiles, el gran número estas interacciones en las proteínas hacen que sean significativas.

- Puentes de hidrógeno

Las proteínas contienen grupos donantes y receptores de protones. El medio ambiente en el cual se encuentran las proteínas también contiene donantes y receptores de uniones de H^+ en las moléculas de agua. La unión de H^+ , por lo tanto, ocurre no solamente en el interior de la proteína sino también con el medio acuoso circundante (Fennema, 2000; Norde, 2003). Sin embargo, quedan un poco marginados al haber otro tipo de interacciones más fuertes como las que a continuación se mencionan.

- Interacciones de Coulumb (electroestáticas)

Las fuerzas electrostáticas son principalmente de tres tipos; carga-carga, carga-dipolo y dipolo-dipolo (Fennema, 2000). Las interacciones carga-carga favorecen el plegamiento de la proteína, al igual que las interacciones de carga-dipolo. Siendo éstas importantes en la formación de la doble capa eléctrica.

- Interacciones hidrofóbicas

Las interacciones hidrofóbicas son las fuerzas responsables de la estructura de las proteínas en la solución (Hettiarachchy y Ziegler, 1994), ya que las interacciones hidrofóbicas de las cadenas apolares laterales de los restos de aminoácidos son la principal causa del plegamiento de las proteínas globulares y en el caso de las proteínas con estructura secundaria la interacciones hidrofóbicas entre los residuos de aminoácidos sostienen la forma α -hélice y β -lámina.

- Puentes disulfuro

Un puente disulfuro es un enlace covalente formado por dos grupos sulfhidrilo (-SH), cada uno de ellos perteneciente a un residuo de cisteína. La formación de este enlace estabiliza la

estructura tridimensional de la proteína, lo que dificulta la adsorción en la interfase aire-agua, por lo que se deben reducir al menos al 50% (Hettiarachchy y Ziegler, 1994).

b) Esquema de distribución de los grupos hidrófilos e hidrófobos

Si la superficie de la proteína es extremadamente hidrófila y no contiene zonas hidrófobas es probable que no se adsorba y por lo contrario a medida que en la superficie de la proteína se encuentren grupos hidrófobos se adsorberá más rápido (Badui, 2006). En la Figura 1.13 se esquematiza esta probabilidad, o sea entre más grupos hidrófobos expuestos tenga la proteína más rápido se adsorberá.

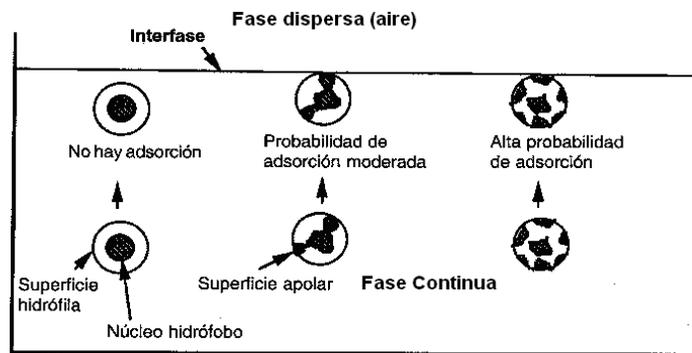


Figura 1.13. Representación esquemática de la distribución de los grupos hidrófobos e hidrófilos (Fennema, 2000).

c) Interacción entre la doble capa eléctrica

La superficie y la proteína en una solución tiene cargas eléctricas e iones electrolitos, para que sea más rápida la adsorción se deben de tener cargas opuestas ya que se atraen de forma más fácil y por ende las proteínas se pueden enlazar más rápido a la interfase (Hettiarachchy y Ziegler, 1994; Norde, 2003), aunque algunas cargas queden dispersas en la solución. De esta forma se forma una doble capa eléctrica la cual sirve para retardar los mecanismos de desestabilización de las espumas, ya que de cierta incrementa la viscosidad de la interfase.

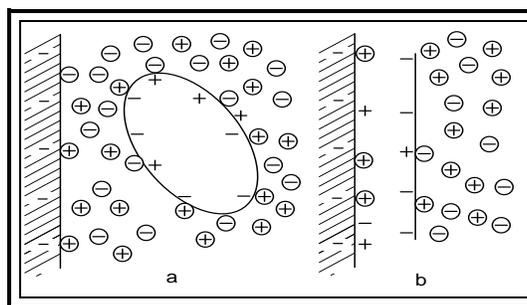


Figura 1.14. Esquematización de la distribución de cargas (Norde, 2003).

En la Figura 1.14 se muestran las carga de la proteína y la superficie (con +/-), en (a) se observan antes de ser adsorbida y en (b) después; los iones electrolito son indicados con \oplus/\ominus (Norde, 2003).

d) Cambios de hidratación

Las propiedades de hidratación de las proteínas adquieren un papel importante en la formación de la espuma ya que van a existir interacciones de la proteína con el agua. Esta propiedad depende enormemente de la composición de aminoácidos, por ejemplo se conoce que los restos proteínicos con carga tienen una afinidad mayor al agua (Fennema, 2000). Además la interacción de los grupos polares de las proteínas con el agua se ven favorecidas por las interacciones electrostáticas y los puentes de hidrógeno (Norde, 2003). Sin embargo, la hidratación de las proteínas se modifica cuando en el sistema existe una superficie apolar. Como ya se mencionó para que haya rápida adsorción de las proteínas en la interfase deben predominar los grupos hidrófobos en la superficie y éstos son apolares, por lo que es obvio que debe predominar la deshidratación.

Por lo tanto el cambio en la hidratación de las proteínas dominan las fuerzas para la adsorción.

1.2.2.3 Factores extrínsecos

Los factores que afectan la estabilidad de una espuma que se realiza a base de proteínas, son importantes ya que se deben controlar para evitar los mecanismos de desestabilización, estos son:

- pH

El pH es un factor que influye en la formación y estabilidad de las espumas, sobre todo para aquellas que se realizan con proteínas. En general, se conoce que las proteínas en el pH isoeléctrico (pI), proporcionan una mayor capacidad espumante y estabilidad; debido a la reducida presencia de interacciones de repulsión que favorece la interacción proteína-proteína (Badui, 2006, Hettiarachchy y Ziegler, 1994), que ayuda a la formación de una película con una viscosidad mayor y por lo tanto mayor estabilidad. Según resultados de Zhang et al., (2004): el pH en el cual funciona mejor el concentrado de suero de leche para la formación de espuma es de 4.5 (cerca de su pI), ya que ambas fracciones proteínicas β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina se adsorben a la misma velocidad en la interfase; en la leche descremada el pH

en el que mejor funciona es el de 3 (cerca del pI). Sin embargo, el caseinato de sodio presenta mejores propiedades espumantes en pH natural que en el pH isoelectrico (Marinova et al., 2009). Si la proteína no es soluble en el pH isoelectrico, entonces no toda va a formar parte de la espuma, lo que provocará que la espuma sea escasa pero estable.

- Sales

El efecto de las sales sobre las propiedades espumantes de las proteínas depende del tipo de sal y las características de solubilidad de la proteína en esa solución salina (Fennema, 2000; Badui, 2006). Resultados de Zhang, et al., 2004, muestran que 2 mM de Ca^{2+} no afectan la adsorción de proteínas de suero en la interfase, pero la disminuyen en las caseínas (α_{s2} , α_{s1} , κ y β). Las proteínas del suero incrementan su capacidad espumante en presencia de NaCl hasta 0.1 M y disminuye a mayor concentración, mientras que en leche descremada (que tiene también caseínas), la capacidad espumante se incrementa hasta 0.8 M de NaCl. Por arriba de 0.4 M de NaCl la concentración de caseínas en la espuma aumenta, mientras las de proteínas del suero disminuyen.

- Concentración

A mayor concentración de proteínas mayor estabilidad debido a que actúan como surfactantes naturales que ayudan a la formación de burbujas más pequeñas, debido a la presencia simultánea de regiones polares y no polares se incrementa la viscosidad y se forman multicapas cohesivas de la película de proteína en la interfase (Badui, 2006). La mayoría de las proteínas presentan una buena estabilidad en un intervalo de 2 al 8%.

- Temperatura

Este factor influye mucho en las espumas realizadas con proteínas, ya que cuando éstas se desnaturalizan por efecto del aumento de la temperatura, orientan los grupos hidrofílicos (polar) e hidrofóbicos (no polar) en la fase acuosa y no acuosa respectivamente (Borcherding et al., 2008 a), lo que hace que se adsorban en la interfase más rápido; sin embargo, si se sobrecalienta pueden ocurrir reacciones proteína-proteína aumentando el peso molecular dificultando así su adsorción en la interfase.

- Lípidos

Los lípidos representan otro factor importante a considerar en la formación de las espumas a base de proteínas, debido a que las moléculas de grasa compiten con las proteínas en la velocidad de adsorción en la interfase aire/agua y se acentúa cuando la concentración de grasas es mayor que 0.5% (Badui, 2006) ya que su superficie es más activa que el de las proteínas, lo que trae como consecuencia que la superficie no sea viscoelástica ocasionando la coalescencia.

- Azúcares

La adición de azúcares suele afectar la capacidad espumante debido a que las moléculas se despliegan menos dificultando la adsorción en la interfase, sin embargo la estabilidad mejora ya que incrementa la viscosidad de la película que separa a las burbujas retrasando el mecanismo de drenado, que ya se explicó, y por lo tanto el colapso (Fennema, 2000).

1.3 Leche descremada en polvo

1.3.1 Definición

Es el polvo uniforme sin gránulos de color blanco amarillento, sabor y olor agradable que ha sido deshidratado y que cumpla con las siguientes especificaciones Cuadros 1.4 y 1.5:

Cuadro 1.4. Especificaciones sensoriales.

Especificaciones	Características
Aspecto	Blanco a ligeramente amarillento Sin impurezas Ni gránulos
Olor	Puro Se admite un olor ligero a leche cocida
Sabor	Puro De ligero dulce a ligero amargo Se admite un sabor a leche cocida

Fuente: NOM-155-SCFI-2003.

Cuadro 1.5. Especificaciones químicas (%).

Especificaciones	
Grasa butírica %	1.5 máx.
Humedad %	4 máx.
Proteínas %	34 mín.
Caseína expresada en sólidos lácteos no grasos %	23.8 mín

Fuente: NOM-155-SCFI-2003.

1.3.2 Proceso de elaboración

El proceso de fabricación de la leche descremada en polvo comprende las siguientes etapas: se parte de leche entera la cual cumple con los requisitos de calidad indicados en la NOM-155-SCFI-2003, enseguida se somete a un proceso de refrigeración hasta llegar a 5°C, para prolongar la vida de la leche, después se descrema por centrifugación separando la materia grasa del resto de la leche, quedando del 0.04 a 0.07% de grasa, después se estandariza para ajustar el contenido de grasa deseado. La siguiente etapa consiste en la pasteurización, la cual se hace normalmente en un intercambiador de placas a 88°C por 3 minutos. Posteriormente la leche se concentra hasta 45% de sólidos, la evaporación se realiza en evaporadores de película descendente a temperaturas de 45 a 50 °C. La leche concentrada pasa directamente al secador por aspersion y se seca con aire caliente; la temperatura del aire de entrada es de 180-230 °C y la de salida es de 70 -95 °C, el producto final tiene una humedad de 2-5 % (Varham y Surherland, 1995). Finalmente se envasa en bolsas multilaminadas de triple papel kraft y bolsa interna de polietileno, para que mantengan la humedad.

1.3.3 Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas de la leche son importantes debido a que la leche descremada hidratada es parte de la fase continua de las espumas que se realizaron. Es conocido que estas propiedades dependen de la composición así como de factores externos como por ejemplo, la temperatura de la muestra, sobre todo en la viscosidad y densidad ya que ambas propiedades disminuyen al aumentar la temperatura (Alais, 1985), debido principalmente a la expansión del agua; enseguida se resumen en los Cuadros 1.6 y 1.7 las de interés en este estudio:

Cuadro 1.6. Propiedades fisicoquímicas.

Propiedad	Magnitud	Unidades
pH	6.5 – 6.65	
Densidad (20°C)	1.036	g/cm ³
Tensión superficial	42.3-52.1	(mN/m)

Fuente: Alais, 1985.

Cuadro 1.7. Viscosidad de la leche descremada (mPa·s).

Temperatura (°C)	Leche descremada	Agua
5	3.9	1.53
10	2.5	1.30
20	1.9	1.006
30	1.35	0.80
50	0.6	0.55

Fuente: Alais, 1985.

1.3.4 Proteínas de la leche

Como se observa en el Cuadro 1.5, uno de los componentes mayoritarios en la leche descremada son las proteínas, que proporcionan la propiedad espumante que es el objeto de estudio de este trabajo.

Las proteínas de la leche se suelen agrupar en dos grandes grupos, las caseínas que componen el 80% del total y las proteínas del suero que representan 20% (Sting, 1997). En el Cuadro 1.8 se muestran la clasificación de las proteínas en la leche descremada.

Cuadro 1.8. Clasificación de las proteínas de la leche descremada.

Proteína	Composición de la leche descremada (g/L)
α_{s1} -Caseína	12-15
α_{s2} -Caseína	3-4
β -Caseína	9-11
κ -Caseína	2-4
β -Lactoglobulina	2-4
α -Lactoalbúmina	0.6 -1.7
Albumina sérica	0.4
Inmunoglobulina G1	0.3-0.6
Inmunoglobulina G2	0.05
Inmunoglobulina A7	0.01
Inmunoglobulina M	0.09
Componente de secreción	0.02.0.1
Lactoferrina	0.02-0.1

Fuente: Badui, 2006.

La leche al contener una mezcla de proteínas flexibles y globulares es ideal para la elaboración de espumas, ya que las proteínas de las caseínas proporcionan una buena capacidad espumante y las del suero suministran estabilidad.

1.4 Caseinato de sodio

1.4.1 Proceso de elaboración

Las caseínas representan cerca del 80% de las proteínas de la leche, están en forma de complejos llamados micelas de caseína (Pitkowski et al., 2009). Son obtenidas mediante la precipitación con ácidos de la leche descremada a pH de 4.6 y 20 °C (Fennema, 2000), durante este proceso se destruye la estructura micelar de las caseínas; sin embargo, aún tienen un porcentaje bajo de grasa por lo que se extrae con éter para después volver a precipitarlas con

un álcali para que queden puras; en este caso se neutraliza con hidróxido de sodio (Casanovay y Cardonat, 2005; Jirgensons, 1958) posteriormente se someten a un proceso de secado el cual generalmente suele ser por aspersión, así se genera lo que se conoce como caseinato de sodio.

1.4.2 Composición

El caseinato está compuesto de cuatro principales fracciones diferentes proteínas: α_{s1} -, α_{s2} -, β - y κ -caseína en una proporción en peso aproximada de 4:1:4:1, respectivamente (Casanovay y Cardonat, 2005). Su composición de aminoácidos se muestra en el Cuadro 1.9:

Cuadro 1.9. Composición de aminoácidos de las principales caseínas.

Aminoácido	α_{s1}	β	κ
Acido aspártico	7.3	4.3	7.3
Treonina	2.1	4.0	8.0
Serina	6.0	5.8	6.0
Ac. Glutámico	21.3	21.1	18.3
Prolina	7.0	13.8	10.2
Glicina	2.2	1.2	0.6
Alanina	2.7	1.5	5.2
Cisteína	0.0	0.0	0.0
Cistina	0.0	0.0	1.1
Valina	4.6	7.8	5.7
Metionina	2.8	3.3	1.4
Isoleucina	5.3	4.7	7.1
Leucina	8.1	10.4	4.8
Tirosina	7.0	2.7	7.7
Fenilalanina	5.0	5.5	3.1
Triptofano	1.6	0.8	1.0
Lisina	7.6	5.9	6.1
Histidina	2.9	3.4	2.2
Arginina	4.0	2.6	4.1

Fuente: Badui, 2006.

Como se observa en el Cuadro 1.9 las caseínas son ricas en ácido glutámico y aspártico los cuales suelen ser aminoácidos ácidos, además de que α_{s1} - y β - caseína no contienen cisteína, la cual es muy importante debido a que influye en la estructura.

1.4.3 Estructura

La estructura de las caseínas en general suele ser primaria (Figura 1.15), es decir, sólo son secuencias de aminoácidos lineales unidas de forma covalente a través de enlaces amidas conocidos como enlaces peptídicos, esta estructura se debe a que contiene en su mayoría aminoácidos desestabilizadores de la hélice- α .

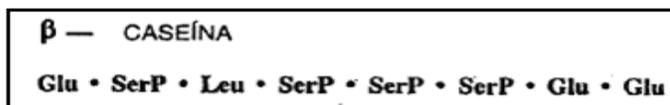


Figura 1.15. Estructura de la β-caseína (Fennema, 2000).

El abundante contenido del aminoácido prolina (Cuadro 1.9) y la repartición de éste a lo largo de la cadena peptídica, provoca impedimentos estéricos (Badui, 2006), es decir, que no formen hélices-α y láminas-β como estructura secundaria. Con excepción de la κ- caseína que presenta pequeñas porciones de hélice-α (Cheftel et al., 1989). Debido a esto se les puede considerar flexibles.

1.4.4 Propiedades de las caseínas

Las caseínas presentan las siguientes características:

- Debido a su estructura se les suele considerar “proteínas desnaturalizadas de origen” por lo que resisten tratamientos térmicos altos sin sufrir alteraciones en su estructura.
- Poseen un alto grado de hidrofobicidad (Cuadro 1.10), por lo que presentan una mejor adsorción en la interfase en las espumas.

Cuadro 1.10. Propiedades de las fracciones del caseinato.

Proteína (abreviación sugerida)	% en el caseinato	Variante genética	Peso molecular (Da)	Punto isoelectrico	A ^{1%} 1 cm ⁽¹⁾	H ^φ (kcal/residuo) ⁽²⁾
α _{s1} -Caseína (α _{s1} -CN)	38.5	B	23,615	4.44-4.476	10.05	1,170
		C	23,542	---	10.03	1,170
α _{s2} -Caseína (α _{s2} -CN)	10	A	25,226	---	---	1,111
β-Caseína (-βCN)	35.8	A1	24,023	---	---	1,322
		A2	23,983	4.83-5.07	4.6-4.7	1,335
		B	24,092	---	4.7	1,326
κ-Caseína (κ-CN)	12.7	A	19,037	5.45-5.77	---	1,205
		B	19,006	5.3-5.8	10.5	1,224

Fuente: Badui, 2006; Maldonado, 2006.

1. Absorbancia de una solución al 1% medida con un paso de luz de 1cm a 280nm.
2. Hidrofobicidad promedio calculada utilizando energías libres de transferencia de cadenas laterales de aminoácidos desde un ambiente orgánico a un ambiente de composición acuosa de varias proteínas.

- El caseinato de sodio tiene un peso molecular de aproximadamente 250,000 Da (Daltones) y sus partículas son cercanas a los 10 nm (Sting, 1997).
- El punto isoeléctrico es ácido debido a la presencia de los aminoácidos con terminaciones carboxilo.

1.4.5 Adsorción en la interfase

Existen diversos estudios que explican que la funcionalidad de las proteínas es proporcionada por la fracción más abundante (Carrera y Rodríguez, 2005; Abascal y Gracia-Fadrique, 2009; Marinova et al., 2009). En el caseinato de sodio la mayor porción son la α_{s1} -caseína y la β -caseína, éstas tienen una estructura similar (Figura 1.15) y debido a que en su composición de aminoácidos predomina la prolina, impide la formación de estructura secundaria (Badui, 2006), por lo que se trata de moléculas flexibles; y debido a que los primeros 50 aminoácidos son hidrófobos, tiene una buena afinidad por la fase dispersa (aire). Marinova et al. (2009), propusieron la forma de adsorción del caseinato de sodio en la interfase aire-agua la cual se esquematiza en la Figura 1.16.

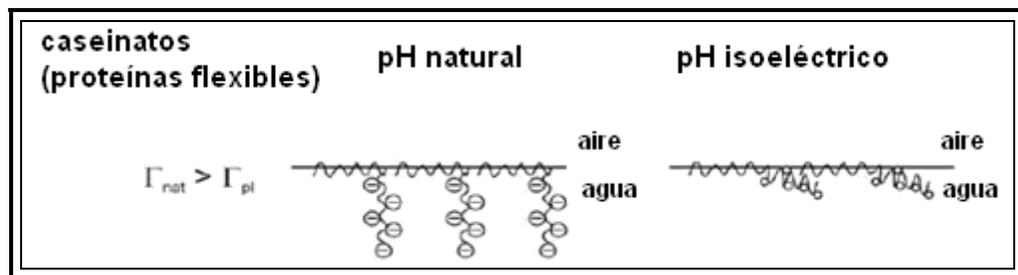


Figura 1.16. Adsorción del caseinato de sodio (Marinova et al., 2009).

A pH natural, el caseinato se puede representar como una capa interna compuesta en su mayoría por residuos hidrófobos, que al penetrar en la interfase toma la configuración de tren, y una capa compuesta por residuos hidrófilos los cuales se extienden hacia la fase acuosa como bucle o en forma de colas (Marinova et al., 2009). Pero en el punto isoeléctrico (pI), los residuos hidrófilos no presentan carga y por lo tanto reducen ligeramente la superficie y en consecuencia el área por molécula incrementa. Por lo que la disminución de la capacidad espumante y estabilidad al pI, no se debe sólo a la precipitación de las caseínas en la superficie, sino también a la cobertura más baja y la repulsión débil entre la superficie de la película delgada, que no puede garantizar la estabilidad de la película y en consecuencia la estabilidad de la espuma (Marinova et al., 2009).

1.5 Concentrado de suero de leche

1.5.1 Proceso de elaboración

Después de la separación de las caseínas de la leche descremada el líquido restante es llamado suero (Guyomarc'h et al., 2009) y constituye el 90% del volumen de la leche. Se han desarrollado dos procesos que tienen la habilidad de extraer las proteínas del suero preservando su integridad; estos procesos son microfiltración en el cual las proteínas son separadas físicamente por un filtro microscópico e intercambio iónico en el que las proteínas son extraídas considerando sus cargas específicas.

Comercialmente se conocen dos tipos, de aislado de proteína de suero (WPI por sus siglas en inglés) y concentrado (WPC por sus siglas en inglés) y cada uno proporciona diferentes propiedades funcionales (Meza et al., 2009).

Por su pH se pueden clasificar en tres tipos (López et al., 2000): suero dulce (pH mayor a 5.8), suero medio ácido (entre 5.8 y 5.0) y suero ácido (pH menor a 5.0).

1.5.2 Composición

Su mayores componentes son la β -lactoglobulina, α -lactoalbumina y la albúmina de suero bovino y otros componentes menores como la inmunoglobulina, lactoferrina y polipéptidos (Sting, 1997). La β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina forman cerca del 70% del contenido proteínico del suero y son responsables de la hidratación, emulsificación y propiedades espumantes del suero (Nicorescu et al., 2008). En comparación con la composición de aminoácidos de las caseínas el concentrado de suero de leche contiene un mejor balance (Cuadro 1.11).

El conocimiento en la secuencia de aminoácidos ayuda a prever la estructura de las proteínas del suero. Las proteínas del suero son ricas en aminoácidos azufrados que ayudan a mantener los enlaces disulfuro y en consecuencia la estructura terciaria.

Cuadro 1. 11. Composición de aminoácidos de las proteínas del suero.

Aminoácido	β -Lg	α -Lac	Albúmina	Inmunoglobulinas
Acido aspártico	10.2	17.1	9.4	8.1
Treonina	4.5	5.0	4.9	8.9
Serina	3.4	4.3	3.5	9.5
Ac. Glutámico	17.9	11.9	14.4	10.7
Prolina	4.3	1.4	4.1	8.4
Glicina	1.0	2.4	1.4	4.0
Alanina	5.5	1.5	5.0	3.8
Cisteína	0.6	0.0	5.5	2.7
Cistina	2.3	5.8	0.0	0.0
Valina	5.5	4.2	5.0	8.1
Metionina	2.9	0.9	0.7	0.8
Isoleucina	6.3	6.4	2.2	2.6
Leucina	13.8	10.4	10.6	8.3
Tirosina	3.6	4.6	4.6	6.0
Fenilalanina	3.3	4.2	5.9	3.5
Triptofano	2.1	5.3	0.5	2.4
Lisina	10.7	10.9	11.2	6.0
Histidina	1.5	2.9	3.3	1.8
Arginina	2.6	1.2	5.3	3.7

Fuente: Badui, 2006.

1.5.3 Estructura

Las proteínas del suero suelen tener estructuras globulares, es decir, son cadenas polipeptídicas con estructura secundaria que se van plegando y compactando con un alto grado de organización (Badui, 2006). Por ejemplo en la β -lactoglobulina contiene del 10 a 50% de hélice α , 20 a 30% de enlaces β , 50 a 60% de lámina β y una estructura no ordenada (Figura 1.17); además contiene enlaces disulfuro que es lo que le imparte la estructura terciaria (Cheftel et al., 1989).

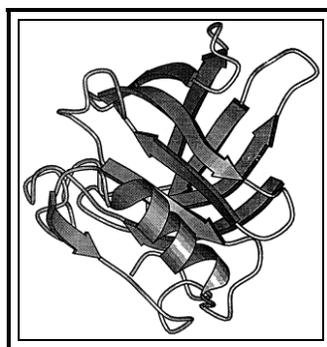


Figura 1.17. Estructura de la β -lactoglobulina. Las flechas indican cadenas peptídicas de láminas- β y los cilindros hélice- α (Fennema, 2000).

Debido a que hay un mejor balance de aminoácidos, los hidrófilos quedan en la superficie y los apolares establecen una alta hidrofobicidad en el centro de la molécula, por lo que son muy solubles.

1.5.4 Propiedades de las proteínas del suero de leche

Las propiedades se resumen en el Cuadro 1.12.

- Son solubles en un intervalo de pH amplio debido a que en la superficie contiene más aminoácidos hidrófilos que hidrófobos.
- La hidrofobicidad es baja en forma nativa debido a la estructura globular, es decir, los grupos hidrófobos se encuentran dentro de la estructura y si no se desnaturaliza, la conformación no cambia.
- Son termosensibles (la temperatura crítica para desnaturalizar la β -lactoglobulina es 60°C).

Cuadro 1.12. Propiedades de las proteínas del suero de leche.

Proteína	% en el suero de leche	Variante genética	Peso molecular (Da)	Punto isoeléctrico	A ^{1%} 1 cm ⁽¹⁾	H ^φ (kcal/residuo) ⁽²⁾
β-Lactoglobulina	45	A	19,363	5.13	9.6	1,211
		B	18,277	5.13	10-9.6	1,217
α-Lactoalbúmina	25	B	14,178	4.2-4.5	20.1-20.9	1,120
Albumina sérica	5	A	66,399	4.7-4.9	6.3-6.9	1,120
Inmunoglobulina G1	13	---	161,000	5.5-6.8	13.6	---
Inmunoglobulina G2		---	150,000	7.5-8.3	13.6	---
Inmunoglobulina A7		---	385,00-417,000	---	12.1	---
Inmunoglobulina M		---	1,000,000	---	12.1	---
Componente de secreción	9	---	63,750	---	15.5	---
Lactoferrina	3	---	76,110	8.81	9.91	1,053

Fuente: Badui, 2006; Tosi et al., 2007.

1. Absorbancia de una solución al 1% medida con un paso de luz de 1cm a 280nm.
2. Hidrofobicidad promedio calculada utilizando energías libres de transferencia de cadenas laterales de aminoácidos desde un ambiente orgánico a un ambiente de composición acuosa de varias proteínas

- No contiene cargas eléctricas extremas
- El peso molecular varía entre los 14,000 y 1, 000,000 Da (daltones), siendo más grandes que las proteínas del caseinato, por lo que se afecta la velocidad de difusión hacia la interfase aire-agua.
- Las propiedades reológicas de los agregados están relacionadas con el tamaño y forma de la molécula. La mayor parte de las proteínas del suero son pequeñas y su estructura es globular, por lo tanto como solución nativa el suero presenta baja viscosidad (Meza et al., 2009).

1.5.5 Adsorción en la interfase

Marinova et al. (2009), propusieron la forma de adsorción de las proteínas del suero concentrado en la interfase aire-agua (Figura 1.18). A diferencia del caseinato de sodio donde las características superficiales las otorga el componente de mayor concentración, en este caso hay controversia en ello, ya que se ha encontrado que si hay un cambio en las porciones de las dos principales proteínas del suero (β -Lactoglobulina y α -lactoalbúmina), las propiedades superficiales cambian. Sin embargo para fines prácticos ambas son proteínas son globulares por lo que la adsorción sería de la siguiente manera.

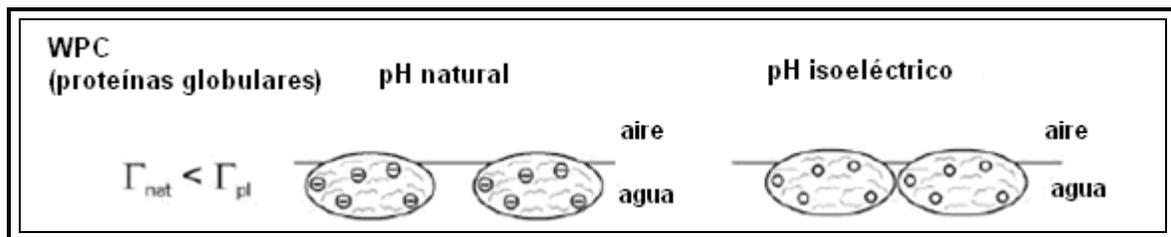


Figura 1. 18 Adsorción del concentrado del suero de proteína (Marinova et al., 2009)

En la Figura 1.18 se observa que no se modifica tanto la estructura de las proteínas globulares al adsorberse en la interfase, debido a las interacciones que persisten internamente. Zhang et al., (2004) encontraron que el pH influye en la adsorción de las proteínas del suero, ya que a pH natural las carga neta es negativa igual que las caseinas, por lo que predominan las fuerzas de repulsión haciendo estable la estructura, sin embargo a pI, disminuye la carga negativa desestabilizando la estructura (Marinova et al., 2009).

Capítulo 2. Metodología de investigación

Enseguida se presenta una descripción detallada de los objetivos e hipótesis que se estudiaron en esta investigación, así como de las actividades realizadas.

2.1. Objetivo general

El objetivo de este proyecto fue determinar el efecto de la concentración de los agentes espumantes reforzantes, caseinato de sodio (1-5%) y concentrado de proteína de suero de leche (5-15%), en las propiedades espumantes de la leche descremada en polvo (10%), a través de las propiedades de la fase continua y de las espumas formadas, para proponer alternativas en la mejora de las propiedades espumantes de alimentos aireados a base de leche descremada en polvo.

2.1.1 Objetivos particulares

1. Determinar el efecto de la concentración de la leche descremada (10–25%), en las propiedades espumantes que proporcionan las proteínas originarias de ésta, evaluando las propiedades físicas y fisicoquímicas (ρ , pH, μ , γ) y espumantes (rendimiento, densidad, diámetro de la burbuja, volumen del líquido drenado y estabilidad a través de la dispersión de luz) de la fase continua y de la espuma, respectivamente.
2. Determinar el efecto de la concentración del caseinato de sodio (1-5%), en el reforzamiento de las propiedades espumantes de la leche descremada, evaluando las propiedades físicas y fisicoquímicas (ρ , pH, μ , γ) y espumantes (rendimiento, densidad, diámetro de la burbuja, volumen del líquido drenado y estabilidad a través de la dispersión de luz) de la fase continua y de la espuma, respectivamente.
3. Determinar el efecto de la concentración del concentrado de suero de leche (5-15%), en el reforzamiento de las propiedades espumantes de la leche descremada, evaluando las propiedades físicas y fisicoquímicas (ρ , pH, μ , γ) y espumantes (rendimiento, densidad, diámetro de la burbuja, volumen del líquido drenado y estabilidad a través de la dispersión de luz) de la fase continua y de la espuma, respectivamente.

2.2 Materiales

Se utilizó leche descremada (LD) marca Darigold (4.9% humedad), la cual fue obtenida por pasteurización, condensación y secado, lote No. 310603; caseinato de sodio (Cas-Na) adquirido en Nutrer S.A de C.V. (7.1 % humedad), el cual se obtiene de la precipitación ácida, neutralización con hidróxido de sodio y secado, lote No. 0773Q y concentrado de suero de leche (WPC por sus siglas en inglés) marca Darigold (35% proteína y 5.9% humedad) obtenido mediante un proceso de ultrafiltración por membrana, lote No. 310732. Se realizaron muestras de leche descremada (10-25 %), mezclas de 10% de LD reforzadas con 5-15 % de concentrado de suero de leche (WPC) y LD10% adicionadas con 1-5% de caseinato de sodio (Cas-Na).

2.3 Actividad preliminar

- **Determinación del tiempo y velocidad de batido**

Justificación: Fue importante esta determinación ya que influyen sobre las propiedades espumantes de las proteínas. El batido debe realizarse a una velocidad y tiempo moderado para producir una espuma con burbujas pequeñas, lo anterior se logra por las fuerzas de cizalla que predominan en el batido, consiguiendo una mejor dispersión uniforme del gas y la desnaturalización parcial de las proteínas. Por el contrario si la velocidad y el tiempo son altos se lleva a cabo un “sobrebatido” teniendo como consecuencia la agregación y precipitación de las proteínas (Cheftel et al., 1989; Fennema, 2000)

Procedimiento:

1. Preparación de las muestras
 - LD (10, 15, 20 y 25 %)
 - LD10% - WPC (5, 7.5, 10, 12.5 y 15 %)
 - LD10%- Cas-Na (1, 2, 3, 4 y 5 %)
- a. Las muestras fueron preparadas a pH natural en porcentaje w/w (masa/masa).
- b. Se pesó la cantidad requerida para cada concentración y se disolvieron en el agua destilada utilizando un agitador magnético (T_{ambiente} aproximadamente por 5 min).

Nota: Se sigue el mismo procedimiento para la preparación de las muestras de las distintas proteínas que se estudiaron en este trabajo.

2. Una vez obtenida la muestra, se batió por diferentes tiempos y velocidades
 - Tiempo (5 y 25) min.
 - Velocidades (alta 6 y baja 4).



Las espumas se formaron usando una batidora planetaria modelo K5SS, KitchenAid Inc., Michigan, U.S.A. (Figura 2.1), con el mezclador de globo de alambre (batidor K45WW).

Figura 2. 1 Batidora planetaria

3. Una vez obtenida la espuma, se pasó a un vaso de precipitados y se midió el volumen que alcanzó la espuma.

Secuencia de cálculo

1. Con los datos obtenidos se calculó la capacidad espumante o rendimiento mediante la siguiente expresión (ecuación 2.1) (Badui, 2006):

$$\text{Capacidad espumante}(\%) = \frac{(\text{Volumen de la espuma}) - (\text{Volumen inicial del líquido})}{\text{Volumen inicial del líquido}} * 100 \quad (2.1)$$

2. Se graficó la capacidad espumante (%) en función de tiempo (min) y de la velocidad.
3. Se seleccionó el tiempo y la velocidad que produjeron mayor capacidad espumante.

2.4 Propiedades de la fase continua

2.4.1 Densidad

Instrumento: Densímetro digital DA-110M, Mettler-Toledo

Número de eventos: 3

Fundamento: Se basa en el principio de un tubo en forma de "u" que tenga una frecuencia resonante que sea inversamente proporcional a la raíz cuadrada de su masa. El volumen del tubo lo da el instrumento; mientras que la densidad de la muestra líquida llenada en el tubo en forma de "u" se calcula de su frecuencia resonante (Lewis, 1993).

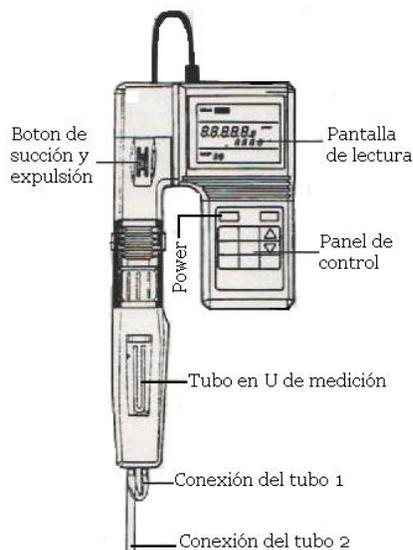


Figura 2.2. Densímetro digital

Procedimiento:

1. Se expulsó el aire del tubo de medición y se verificó la calibración del densímetro con agua destilada.
2. Se llenó el tubo U de medición (Figura 2.2) con la muestra a medir.
3. Se tomó la lectura de densidad (g/cm^3).
4. Se repitió el procedimiento.

2.4.2 pH

Instrumento: Potenciómetro manual, Testr 3, Oakton

Número de eventos: 3

Fundamento: Sus componentes esenciales son un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un voltímetro calibrado para poder leer directamente en unidades de pH. El electrodo de vidrio se basa en una propiedad singular de una fina membrana de un vidrio especial, que hace que se establezca un potencial a través de la membrana cuando ambos lados de la misma se hallan en contacto con disoluciones en las que las concentraciones de iones hidrógeno son diferentes.

Procedimiento:

1. Se calibró el potenciómetro utilizando una solución amortiguadora (pH 7 y pH 4).
2. Se colocó una pequeña muestra en un vaso de precipitados de 100 ml.
3. Se introdujo el electrodo en la muestra.
4. Se tomó la lectura.

2.4.3 Viscosidad

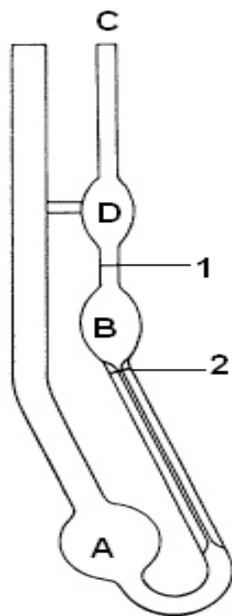
Justificación. Al aumentar la viscosidad de la muestra (fase continua) se dificulta la movilidad de las burbujas impidiendo que se aproximen, evitando así fenómenos de desestabilización y haciendo más duradera la espuma.

Instrumento: Viscosímetro Ostwald.

Número de repeticiones: 15

Fundamento: Mide el tiempo requerido para que un volumen determinado de líquido fluya entre dos marcas por un capilar desde un bulbo reservorio. Por comparación de dos líquidos, uno de viscosidad conocida como el agua o por la medida de una solución con un polímero y su relación con la del solvente puro en el mismo instrumento, las viscosidades relativas se obtienen fácilmente (Alvarado, 2001). Debido a la pequeña fuerza hidrostática que actúa por acción de la gravedad, las medidas están restringidas a líquidos de viscosidad baja.

Procedimiento:



1. El viscosímetro bien limpio se llenó con la muestra hasta la mitad de A (Figura 2.3).
2. Se succionó la muestra (fase continua) por C hasta que llegó a D, y se mantuvo tapado C (Figura 2.3).
3. Se destapó C y se midió el tiempo que tardó la muestra (fase continua) en recorrer la distancia 1 – 2.
4. Se realizó la misma medición con el agua como fluido de referencia para poder calcular la viscosidad de la muestra.

NOTA: se realizó 15 repeticiones debido a la imprecisión que presentó la medición del tiempo.

Figura 2.3. Viscosímetro de Ostwald.

Secuencia de cálculo.

- a) Se realizó un promedio de los tiempos registrados por la muestra (fase continua) y el fluido de referencia (agua destilada).
- b) Conociendo la densidad de la fase continua (experimentalmente), el tiempo que tardó en fluir por el tubo capilar, la viscosidad y densidad del fluido de referencia (tablas), se sustituyó en la ecuación 2.2, obteniendo así la viscosidad relativa (Alvarado, 2001):

$$\eta_{relativa} = \frac{\eta_{alimento}}{\eta_{agua}} = \frac{(t_{alimento})(\rho_{alimento})}{(t_{agua})(\rho_{agua})} \quad (2.2)$$

- c) Con la viscosidad del agua y la viscosidad relativa a la misma temperatura (25°C), se determinó la viscosidad de la muestra (fase continua) sustituyendo los datos en la ecuación 2.3 (Alvarado, 2001).

$$\eta_{muestra} = \eta_{relativa} * \eta_{agua} \quad (2.3)$$

2.4.4 Tensión superficial

Justificación: esta propiedad es importante en las espumas ya que entre más disminuye la tensión superficial más fácil se crea un área superficial, con lo cual se obtiene una mayor capacidad espumante ya que es capaz de retener más aire y por lo tanto formar más burbujas (Schramm, 2005; Lewis, 1993).

Instrumento: Tensiómetro PAT-1 Sinterface

Número de eventos: 3

Fundamento: El principio se basa en el método de la gota pendiente, es decir, se toma la imagen de una gota, se amplía y se mide el diámetro máximo (d_m) y el diámetro menor (d_h) a la distancia d_m de la base de la gota (Figura 2.4). El cálculo de la tensión superficial está descrita por la ecuación Young-Laplace, pero el software realiza la transformación y proporciona el valor de tensión superficial.

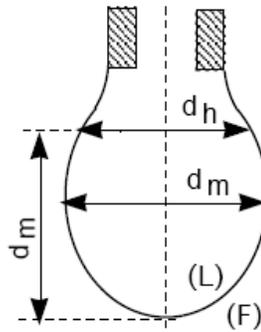


Figura 2. 4 Gota pendiente

2.5 Propiedades de las espumas

2.5.1 Densidad

Justificación: Es una propiedad física importante en las espumas ya que al incorporar aire ésta disminuye, además que junto con el diámetro de la burbuja ayudan a determinar el aspecto de la espuma e influyen en las propiedades reológicas (Muñoz y Silva, 1995).

Instrumento: Cajas de petri

Número de eventos: 3

Fundamento: Unidad de masa (determinada por gravimetría) contenida en unidad de volumen (Lewis, 1993; Ramírez, 1996).

Procedimiento:

1. Se determinó el volumen de las cajas Petri.
 - a. Se midió el diámetro interno y la altura de las cajas con un Vernier digital.
 - b. Se calculó el volumen mediante la fórmula 2.4:

$$\text{Volumen de la caja Petri} = \pi(r^2)(h) \quad (2.4)$$

2. Se tomó el peso de la caja Petri vacía.
3. Se llenó completamente las cajas Petri con la espuma y se tomó el peso.
4. Se calculó la densidad por medio de la siguiente relación (ecuación 2.5):

$$\text{Densidad } (\rho) = \frac{\text{masa de la espuma}}{\text{volumen de la espuma}} \quad (2.5)$$

Donde:

masa de la espuma = (peso de la caja con la espuma) – (peso de la caja vacía)

Volumen de la espuma es el de la caja de Petri

Tamaño de la burbuja y estabilidad

Justificación: Estas propiedades físicas son importantes en las espumas ya que evaluándolas se obtiene información acerca de cómo actúan las proteínas y los agentes espumantes (caseinato de sodio y suero de leche); dado a que a mayor tamaño de las burbujas menor estabilidad (Borcherding et. al., 2008b).

2.5.2 Diámetro de la burbuja

Instrumento: Microscopio óptico, Olympus CX31

Burbujas a medir: Aproximadamente 100

Fundamento: Un microscopio óptico se trata de un instrumento que contiene una o varias lentes que permiten obtener una imagen aumentada del objeto y que funciona por refracción de luz.

Procedimiento:

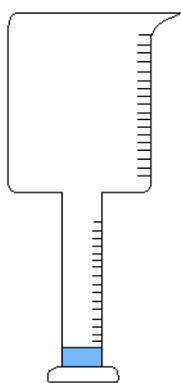
- 1) Se colocó cuidadosamente una muestra pequeña de la espuma en el portaobjetos.
- 2) Se cubrió la muestra con un cubreobjetos.
- 3) Se enfocó el microscopio en el objetivo deseado (10x) (Cox et al., 2009).
- 4) Se midió al azar las burbujas; 100 burbujas por espuma (Borcherding et. al., 2008b).

2.5.3 Drenado en copas de estabilidad

Instrumento: Copas de estabilidad

Numero de eventos: 3

Justificación: El drenado del líquido en la espuma es un factor importante debido a que entre mayor porcentaje de drenado menor estabilidad.



Las copas de estabilidad son instrumentos que se idearon con la finalidad de cuantificar más fácilmente el volumen de líquido drenado de la espuma, controlando el volumen o peso inicial de la esta. Debido a que introducir la espuma en una probeta resulta difícil.

Una copa de estabilidad resulta de la unión de un vaso de precipitados de 150ml a una probeta de 10ml (Figura 2.5).

Figura 2.5. Copa de estabilidad

Procedimiento:

1. Una vez obtenida la espuma, se pasó (150ml) con mucho cuidado a la copa de estabilidad.
2. Se midió el volumen del líquido drenado cada 5 minutos.
3. Se realizaron graficas del volumen de líquido drenado en función del tiempo.

2.5.4 Estabilidad a través de la dispersión de luz

Instrumento: Turbiscan MA2000, Formulacion

Número de eventos: 3

Fundamento: El funcionamiento del equipo, consiste en la dispersión de luz, al hacer incidir una cantidad de energía en forma de fotones a través de la solución que se va a analizar. Una parte de la energía incidente logra atravesar la muestra y es detectada mediante un diodo, se dice que es la energía transmitida. Por el contrario, la energía que no logra atravesar la muestra se le llama energía de retrodifusión. La prueba en el Turbiscan MA 2000, Formulacion, es un barrido de energía luminosa a lo largo de la longitud de un tubo de ensayo en el que se encuentra la muestra. En el tiempo se registra la evolución de la señal de transmisión y retrodifusión, la interpretación de la secuencia que muestra la señal permite determinar si la espuma es estable o si ésta sigue un mecanismo de desestabilización (Cox et al., 2009; Uscanga, 2007).

Procedimiento:

1. Se colocó aproximadamente 7 ml de la espuma en el tubo.
2. Se programó el software para que se realizaran los barridos o scans de luz de transmisión y retrodispersión, cada determinado tiempo:
 - Espumas de LD y LD10%- WPC 90 lecturas (scans), cada 2 minutos
 - Espumas de LD10%- Cas-Na 30 lecturas (scans), cada 2 minutos.
3. A partir de los barridos, se obtuvieron perfiles de luz transmitida y retrodispersada en función de la longitud de la muestra así como del tiempo. En éstos se identificaron zonas de drenado de líquido (pico en la zona de retrodispersión, en la parte inferior del tubo), maduración de Ostwald (disminución de la luz retrodifundida, con picos irregulares) y colapso de la espuma (picos de transmisión en la parte superior del tubo).

4. Con ayuda del software, se obtuvieron cinéticas de espesor absoluto de cada zona (curvas del espesor con respecto al tiempo).
5. Los datos de las cinéticas se exportaron a excel y se ajustaron a diferentes modelos (lineal y logarítmico)

2.6 Análisis estadístico

Los resultados fueron presentados como media, desviación estándar y coeficiente de variación. La media es el número que se obtiene al dividir la suma de todas las observaciones por el número de ellas. La desviación estándar (s), es un parámetro que mide que tan desviado o separado está cada resultado obtenido respecto a la media. El coeficiente de variación (% CV) indica en términos porcentuales, la dispersión de una serie de datos respecto al valor medio. Cuando el valor del CV es igual a 0, no existen diferencias entre los puntos, resultando entonces una distribución totalmente homogénea. Valores de CV entre 0 y menores 10% son resultados muy buenos, entre 10% y menores de 15% son resultados aceptables, valores mayores de 25% son resultados malos y se puede rechazar los resultados (Devore, 2005).

Análisis de varianza

Se aplicó el análisis de varianza (Anova) de una vía para establecer el efecto de la concentración y tipo de proteína sobre las propiedades de la fase continua así como de las propiedades espumantes (Devore, 2005). Para tal efecto se eligió el nivel de significancia $\alpha < 0.05$. El Anova se ejecutó mediante el programa Minitab^R.

En aquellas propiedades en las que se mostró un efecto significativo ($\alpha < 0.05$), se utilizó el método de las comparaciones múltiples de Tukey para identificar diferencias entre las medias. De igual manera se ejecutó en el programa Minitab^R.

Capítulo 3. Resultados y análisis de resultados

3.1 Actividad preliminar

- *Estandarización del método de batido*

Se seleccionó el método de batido para la obtención de espumas, ya que es el más común pues permite conseguir una dispersión del gas más uniforme.

Fue necesario estandarizar el método de batido ya que influye en las propiedades espumantes, el método se ajustó determinando el tiempo y la velocidad a la que se prepararon las espumas. Se eligió el método de batido con base en la capacidad espumante, debido a que es una de las propiedades que más afecta, dado a que si se aplica un tiempo corto y una velocidad baja no se dispersa bien el aire y no se logran grandes rendimientos o capacidad espumante, por el contrario si se lleva a cabo un “sobrebato” hay agregación y precipitación de las proteínas (Cheftel et al., 1989; Fennema, 2000), por lo que disminuye la capacidad espumante.

En la Figura 3.1 se muestran los resultados obtenidos al variar la velocidad y el tiempo de batido, cabe mencionar que sólo se variaron dos velocidades y dos tiempos, ya que son los que se han encontrado reportados en otras investigaciones (Davis y Foegeding, 2007; Rouimi et al., 2005; Zhang et al., 2004).

Se realizaron espumas de leche descremada al 10% (LD10%), leche descremada con caseinato de sodio al 3% (LD10%-Cas-Na 3%) y leche descremada con concentrado de suero de leche al 10% (LD10%-WPC 10%), estas concentraciones corresponden a los valores medios de concentración de las muestras de estudio. También se probaron dos caseinatos de diferente proveedor (Internacional de Químicos y Nutrer S.A. de C.V.) con la finalidad de seleccionar solamente uno.

Se puede observar en la Figura 3.1, que a la velocidad baja, 4 durante 5 minutos, se logró el menor rendimiento (28%) para LD10%, en tanto que a la misma velocidad durante 25 minutos, se alcanzó un valor máximo de 328%, para el caseinato de sodio de la marca Nutrer S.A. de C.V., mientras que a velocidad de batido alta 6, durante 25 minutos para el mismo caseinato se obtuvo una capacidad espumante de 777.3%, la cual fue la máxima para las muestras estudiadas. Por lo tanto, se decidió utilizar la velocidad alta de 6 y el tiempo de 25 minutos para la formación de las espumas, ya que fueron las condiciones en las que se obtuvo mejor capacidad espumante en los casos evaluados.

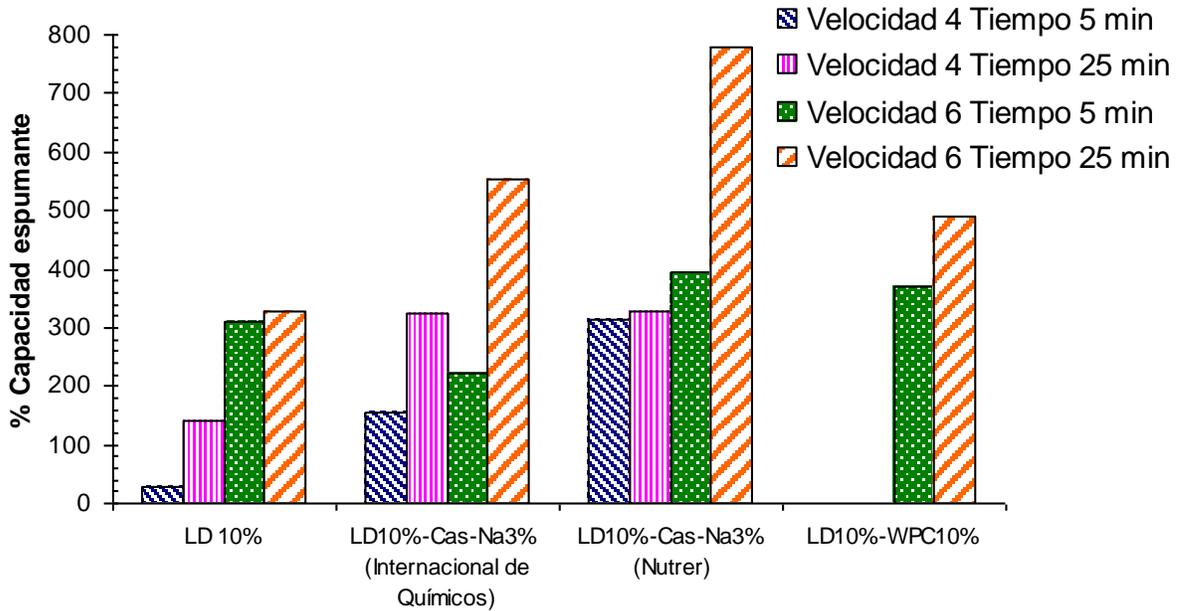


Figura 3.1. Efecto de la velocidad y tiempo de batido en la capacidad espumante de la leche descremada (LD) y reforzadas con caseinato de sodio,(Cas-Na) y concentrado de suero de leche, (WPC).

En cuanto a los caseinos estudiados, el que era del Proveedor Internacional de Químicos presentó un rendimiento máximo de 553.33 %, mientras que el caseinato del proveedor Nutrer S.A. de C.V., presentó una capacidad espumante máxima de 777.33%, por lo que se decidió seleccionar este último.

Determinar el tiempo y velocidad de batido fue importante, ya que con ello se logró un mejor desempeño de las proteínas, además de que se eliminaron como variables independientes.

Una vez establecido el método de batido se procedió a realizar las mediciones de acuerdo a los objetivos planteados en este estudio.

Para tener una mejor comprensión del efecto de la concentración de los agentes espumantes reforzantes (Cas-Na y WPC), en las propiedades espumantes de la leche descremada en polvo, se analizaron las propiedades físicas y fisicoquímicas de la fase continua de todas las muestras de estudio y posteriormente las propiedades espumantes.

3.2 Propiedades de la fase continua

Las propiedades físicas y fisicoquímicas de la fase continua son importantes debido a que influyen en la formación y estabilidad de las espumas, por ello se evaluaron y a continuación se presentan los resultados.

3.2.1 Densidad

En el Cuadro 3.1 se presentan los resultados de la densidad así como la desviación estándar (s) y el coeficiente de variación (CV) expresado en porcentaje. La densidad es el promedio de las tres réplicas que se realizaron a las muestras. La medición se realizó a 25 °C y se utilizó un densímetro digital, ya que es más preciso.

Cuadro 3.1. Efecto de la concentración de proteína y tipo de agente espumante en la densidad de la fase continua (T 25°C).

Muestra	Densidad (g/cm ³)*	s	% C.V.
LD 10%	1.036 ^a	0.001	0.06
LD 15%	1.053 ^b	0.001	0.05
LD 20%	1.072 ^c	0.001	0.05
LD 25%	1.090 ^d	0.002	0.18
LD10% - WPC 5%	1.054 ^a	0.001	0.09
LD10% - WPC 7.5%	1.060 ^b	0.002	0.20
LD10% - WPC 10%	1.071 ^c	0.001	0.05
LD10% - WPC 12.5%	1.081 ^d	0.003	0.23
LD10% - WPC 15%	1.093 ^e	0.000	0.00
LD10% - Cas-Na 1%	1.039 ^a	0.002	0.22
LD10% - Cas-Na 2%	1.043 ^b	0.001	0.11
LD10% - Cas-Na 3%	1.047 ^c	0.000	0.00
LD10% - Cas-Na 4%	1.050 ^c	0.001	0.06
LD10% - Cas-Na 5%	1.053 ^d	0.000	0.00

Nota:* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para cada grupo de proteína reforzante

En general, se observa que la desviación estándar es baja y por lo tanto el coeficiente de variación es bajo, en todos los casos es menor al 1% por lo que los resultados se consideran confiables. La densidad de las soluciones proteínicas aumenta conforme la concentración de sólidos aumenta, lo que concuerda con lo reportado para leche (Alais, 1985).

La densidad se ve afectada principalmente por la concentración de elementos disueltos y en suspensión; por ello cuando hay 15% de sólidos, la densidad es igual a 1.053 g/cm³ para la leche descremada y también en el caso de la mezcla de leche descremada 10% con caseinato de sodio 5%, mientras que la mezcla de leche descremada 10% con concentrado de suero de leche al 5% presenta una densidad de 1.054 g/cm³, que es muy similar a la anterior. Las muestras que menor densidad presentaron fueron las realizadas con caseinato de sodio, debido a que se agregaron concentraciones en un intervalo de 1-5%.

Cabe mencionar que se realizaron por separado los análisis estadísticos, es decir, por un lado la leche descremada a las diferentes concentraciones estudiadas, luego a las que se adicionó concentrado de suero de leche y por último, las reforzadas con caseinato de sodio; ya que al no tener las mismas concentraciones no se pueden comparar estadísticamente

El análisis estadístico realizado para cada agente espumante (Anova 1 vía-Tukey), revela la existencia de diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) en las densidades por efecto de la concentración y tipo de proteína, es decir, que al aumentar de concentración aumenta la densidad para las muestras de leche descremada y las que fueron reforzadas con concentrado de suero de la leche, sin embargo para las muestras adicionadas con caseinato de sodio, a las concentraciones de 3 y 4% no hay diferencia estadística significativa y por lo tanto se pueden considerar similares.

3.2.2 pH

En el Cuadro 3.2 se muestra el promedio de las réplicas que se realizaron del pH a las muestras de leche descremada así como las reforzadas con Cas-Na y WPC, la desviación estándar (s) y el porcentaje del coeficiente de variación. La medición se realizó a 25 °C.

Cuadro 3.2. Efecto de la concentración de proteína y tipo de agente espumante en el pH de la fase continua (T 25°C).

Muestra	pH*	s	% C.V.
LD 10%	6.59 ^a	0.006	0.088
LD 15%	6.49 ^b	0.006	0.089
LD 20%	6.45 ^c	0.006	0.089
LD 25%	6.43 ^d	0.006	0.090
LD10% - WPC 5%	6.52 ^a	0.012	0.177
LD10% - WPC 7.5%	6.41 ^b	0.006	0.090
LD10% - WPC 10%	6.35 ^c	0.006	0.091
LD10% - WPC 12.5%	6.34 ^c	0.012	0.182
LD10% - WPC 15%	6.32 ^d	0.000	0.000
LD10% - Cas-Na 1%	6.60 ^a	0.006	0.088
LD10% - Cas-Na 2%	6.49 ^b	0.006	0.089
LD10% - Cas-Na 3%	6.50 ^{bc}	0.000	0.000
LD10% - Cas-Na 4%	6.52 ^{cd}	0.000	0.000
LD10% - Cas-Na 5%	6.53 ^d	0.000	0.000

Nota:* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para cada grupo de proteína reforzante

En general se observa que no hubo variación considerable de las tres réplicas que se realizaron, ya que la desviación estándar es baja el coeficiente de variación fue inferior al 1%, por lo que los resultados pueden considerarse confiables. Asimismo, el intervalo de pH para todas las muestras osciló entre 6.32 a 6.6, valores ligeramente menores a los reportados por Alais, (1985) y Borcherding et al., (2008 b) 6.6 a 6.8 para leche entera.

El análisis estadístico de igual manera se realizó por separado, para las muestras que contenían leche descremada, concentrado de suero de leche y caseinato de sodio, en cada uno se observó la existencia de diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) en el pH por efecto de la concentración y tipo de proteína. Para las muestras de leche descremada, al aumentar la concentración disminuyó el pH y estadísticamente son diferentes entre sí.

En el caso de las muestras reforzadas con concentrado de suero de leche, estadísticamente son diferentes a la leche descremada de 10% (que es la base de todas las muestras) y hubo una disminución en el pH al aumentar la concentración; sin embargo, en las concentraciones de 10 y 12.5% no se observó diferencia estadística entre ellas, o sea que no influye el aumento de la concentración en el pH.

Finalmente para las muestras adicionadas con caseinato de sodio no hay diferencia estadística con la leche descremada al 10%, o sea, el pH es el mismo, aunque entre sí, la concentración de 1% de Cas-Na fue diferente estadísticamente de todas las de mayor concentración de caseinato, es decir, que el aumento en la concentración no influyó en el pH, ya que la concentración de Cas-Na 2%, es igual a 3% y 3% es igual a 4% y esta última es igual a 5%. Es decir el aumento en la concentración de caseinato funcionó como un efecto amortiguador.

El pH de las muestras de leche descremada son mayores que los que se obtuvieron para las muestras reforzadas con concentrado de suero de leche, debido a ello se midió el pH del concentrado de suero de leche en una solución al 5% para revelar cómo afecta éste al pH de las soluciones. El pH del WPC 5% fue de 6.25 que en comparación con el que se obtuvo de la solución de LD10% (6.59) es menor, por lo que se puede decir que éste ayuda a disminuir aún más el pH de las muestras que contiene LD10%-WPC en relación a las soluciones proteínicas que sólo tienen leche descremada.

De igual manera se realizó una solución de caseinato de sodio al 1% y se midió el pH, éste fue de 6.11, que también es menor al de la leche descremada al 10% y a los que se obtuvieron de las muestras de LD10%-Cas-Na (6.6-6.5), aunque en este caso sólo disminuyó el pH al

aumentar la concentración de caseinato de sodio hasta 2%, ya que estadísticamente el pH a las concentraciones de 2, 3 4 y 5% son iguales.

En este estudio en todas las muestras, el pH varió en un intervalo de 6.32 a 6.6 por lo que es menor al pH fisiológico (que está próximo a 7) pero mayor al pH isoelectrico (3 a 4.6) para todos los casos; por lo que prevalece su carga negativa (Borcherding et al., 2008 b) que hace que no cambie la estructura cuando migran a la interfase.

3.2.3 Viscosidad

En el Cuadro 3.3 se presentan los resultados promedio del tiempo que tardaron en fluir las muestras a través del tubo capilar del viscosímetro de Ostwald, así como la viscosidad calculada a partir del tiempo, la desviación estándar (s) y el porcentaje del coeficiente de variación. Las mediciones se realizaron controlando la temperatura a 25 °C.

Cuadro 3.3. Efecto de la concentración y tipo de agente espumante en la viscosidad de la fase continua (T 25°C).

Muestra	Tiempo (s)	Viscosidad (mPa·s)*	s	% C.V.
LD 10%	17.6	1.53 ^a	0.11	0.60
LD 15%	24.5	2.17 ^b	0.17	0.71
LD 20%	39.3	3.55 ^c	0.29	0.73
LD 25%	57.7	5.30 ^d	0.47	0.82
LD10% - WPC 5%	23.4	2.08 ^a	0.12	0.49
LD10% - WPC 7.5%	27.4	2.45 ^b	0.22	0.80
LD10% - WPC 10%	30.6	2.76 ^c	0.28	0.91
LD10% - WPC 12.5%	41.0	3.73 ^d	0.66	1.62
LD10% - WPC 15%	53.9	4.97 ^e	0.47	0.88
LD10% - Cas-Na 1%	20.2	1.77 ^a	0.17	0.82
LD10% - Cas-Na 2%	25.7	2.26 ^b	0.29	1.13
LD10% - Cas-Na 3%	30.2	2.67 ^c	0.33	1.09
LD10% - Cas-Na 4%	40.4	3.58 ^d	0.20	0.50
LD10% - Cas-Na 5%	55.4	4.92 ^e	0.21	0.39

Nota:* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para cada grupo de proteína reforzante

En general se observa, que a medida que se incrementó la concentración aumentó el tiempo que tardaban las muestras en fluir, por lo que también aumentó la viscosidad. De igual manera se muestra que el coeficiente de variación es menor al 2%, por lo que las mediciones se

consideran precisas, mediante el uso de este instrumento, aunque fueron menos precisas en comparación a las mediciones de densidad con el densímetro digital. Como ya se mencionó a partir de los tiempos registrados se calculó la viscosidad teniendo el tiempo del agua destilada como líquido de referencia, ésta presentó el menor tiempo (10.6 s) en fluir a través del tubo capilar del viscosímetro.

En los análisis estadísticos para las muestras de leche descremada, las adicionadas con concentrado de suero de leche y las reforzadas con caseinato de sodio, revelaron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) en la viscosidad por efecto de la concentración de proteína.

La viscosidad de la leche descremada 10% (1.53 mPa·s), es menor en comparación a las soluciones reforzadas con caseinato y concentrado de suero de leche y estadísticamente también hay diferencias significativas entre ellas.

El análisis estadístico comparativo (Tukey), muestra diferencias entre cada concentración para cada agente espumante, o sea, que para las muestras de leche descremada, las adicionadas con concentrado de suero de leche y las reforzadas con caseinato de sodio, el efecto de la concentración en la viscosidad es muy evidente, por ello la diferente letra (Cuadro 3.3). Por lo tanto, la viscosidad aumenta al incrementar la concentración, para todas las muestras.

La viscosidad como medida de la resistencia a fluir depende de factores internos como la estructura química de la molécula, las interacciones con el disolvente, del peso molecular (Mott y Enríquez, 2006; Lewis, 1993), así como de factores extrínsecos como el pH, temperatura y la fuerza iónica (Badui, 2006).

Las muestras de LD, al tener una mezcla de proteínas flexibles (caseínas que componen el 80% del total) y globulares (proteínas del suero 20%), permiten un balance mayor entre la interacción de las moléculas con el agua y el peso molecular que son dos de los factores que influyen en la viscosidad, por ello aumenta la viscosidad al incrementar la concentración, por ejemplo la muestra que contiene 25% de sólidos tiene una viscosidad de 5.30 mPa·s, en comparación a la muestra de LD 10% que presenta una viscosidad de 1.53 mPa·s.

En relación a las muestras de LD10% reforzadas con concentrado de suero de leche, al poseer un alto peso molecular (19000 a 100000 Da) adquiere un mayor volumen hidrodinámico y la viscosidad de la muestra aumenta (Fernández, 2003), por ejemplo la muestra LD10%-WPC 5% presenta una viscosidad de 2.08 mPa·s, mientras que la muestra LD10%-WPC 15% presenta una viscosidad de 4.97 mPa·s.

En el caso de las muestras de LD10% adicionadas con caseinato de sodio al poseer fracciones proteínicas (α_{s1} - 38.5%, α_{s2} - 10%, β - 35.8% y κ - 12.7% caseína) con estructura flexible, tienen sus grupos hidrófilos expuestos permitiendo una mayor interacción con el agua, lo cual provoca una restricción en el movimiento de las partículas (Rojas-Cazares et al., 2001), esto permite tener viscosidades similares a las soluciones reforzadas con concentrado de proteína del suero de leche, por ejemplo la solución proteínica LD10%-Cas-Na 5% presenta una viscosidad de 4.92 mPa·s muy similar a la solución LD10%-WPC 15% que tiene una viscosidad de 4.97 mPa·s.

Como ya se mencionó en los antecedentes, al aumentar la concentración de moléculas anfifílicas (proteínas) en el medio acuoso, unas de ellas migrarán a la superficie (interfase con el aire) y las otras tenderán a agruparse para dar forma a micelas, es decir, las cabezas hidrófilas queda en contacto con el agua y las colas hidrófobas quedan en el interior de una entidad esférica (Maldonado, 2006), que pudiera ser el caso del caseinato de sodio, al poseer fracciones proteínicas con estructura flexible y una hidrofobicidad mayor a las proteínas globulares, tiende a formar micelas haciendo más viscoso el medio, éste puede ser el motivo de que la viscosidad sea similar para proteínas globulares y flexibles, aunque no se tenga la misma concentración.

3.2.4 Tensión superficial

La tensión superficial o interfacial como ya se ha mencionado tiene un papel muy importante en la formación y estabilidad de las espumas. En la Figura 3.2 se muestran la tensión superficial dinámica de las muestras de leche LD al 10% y 25%, así como las de las mezclas de leche 10% y concentrado de suero de leche (WPC) al 5% y 15%, además de la tensión de la leche descremada 10% con caseinato de sodio al 1%. Cabe mencionar que sólo se midieron las

concentraciones mayor y menor de cada agente espumante estudiado, ya que con ello se puede observar la tendencia al aumentar la concentración.

En general se observa que la tensión superficial disminuye rápidamente conforme pasa el tiempo; para la muestras de LD 10%, LD 25% y LD10%-WPC 5% como a los 100 segundos, ésta permanece casi constante. Sin embargo, para las muestras de LD10%-WPC 15% y LD10%-Cas-Na 1% continúan disminuyendo, aunque se dejaron más tiempo; este resultado se discutirá más adelante en las curvas de la cinética de adsorción.

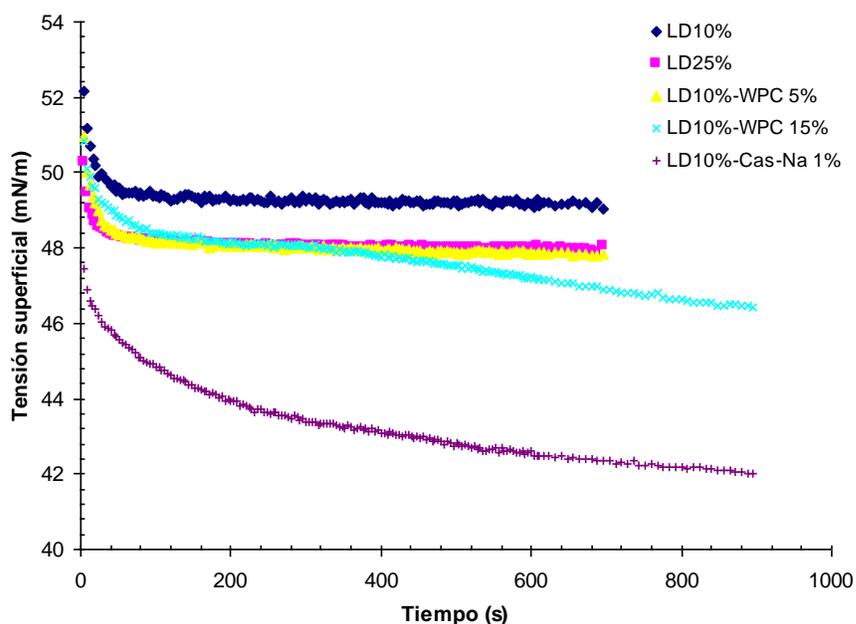


Figura 3.2. Tensión superficial dinámica en la interfase aire-agua, a pH natural.

Proceso de adsorción

El proceso de adsorción de las proteínas en la interfase aire-agua como ya se mencionó en los antecedentes, generalmente se estudia en función de la tensión o presión superficial. En la Figura 3.3 se observa el proceso de adsorción en un caso ideal, presentando los tres regimenes o periodos: (I) inducción en el cual la tensión permanece constante, (II) penetración, la tensión rápidamente disminuye y (III) reacomodo, suceden cambios conformacionales de la molécula proteínica en la interfase, lo que provoca que la tensión superficial disminuya muy lentamente (Beverung et al., 1999; Caseli et al., 2005; Pérez et al., 2009).

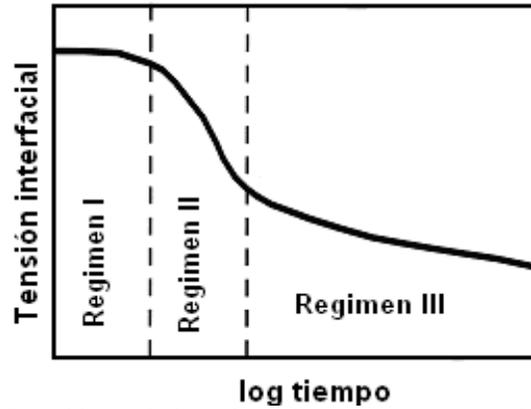


Figura 3.3. Cinética de adsorción en la interfase aire-agua en un caso ideal (Beverung et al, 1999).

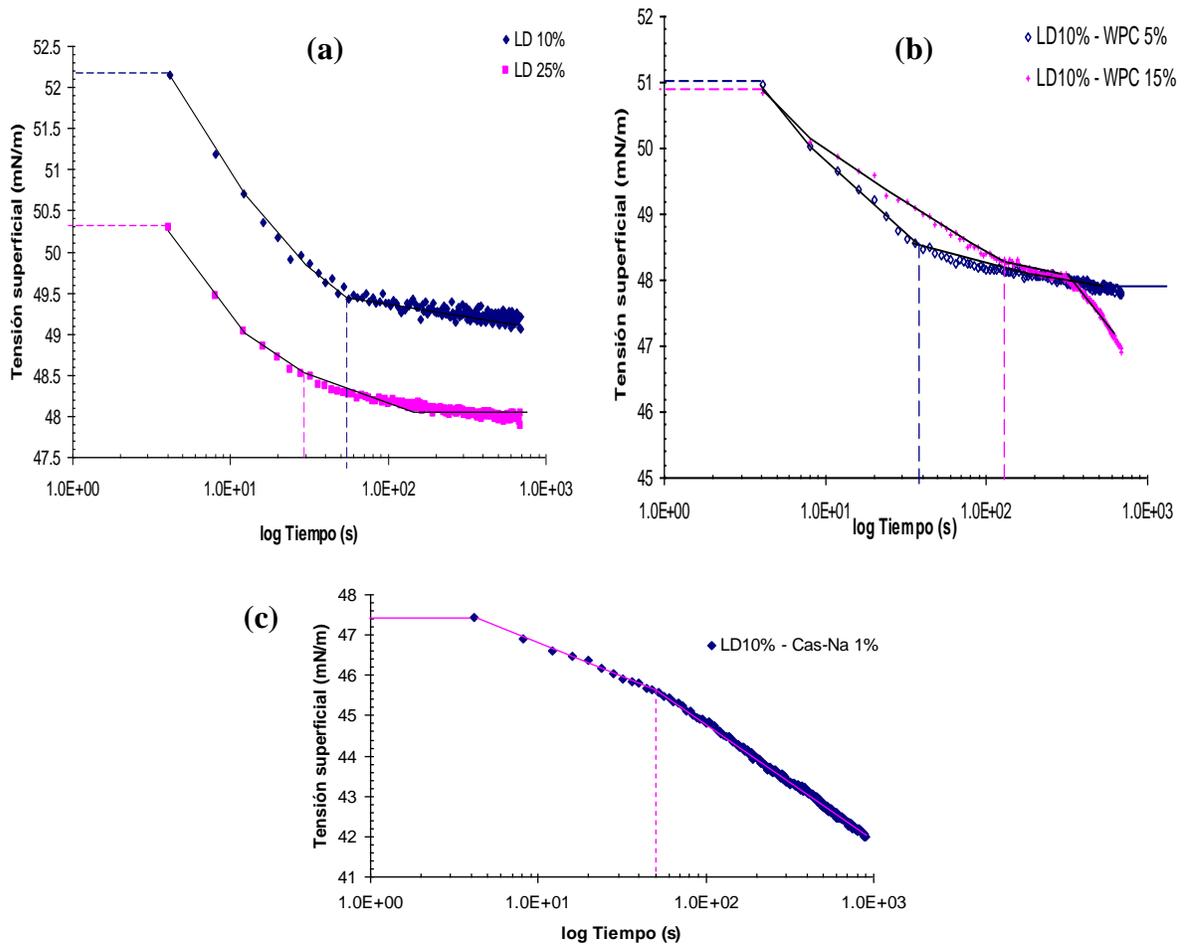


Figura 3.4. Cinética de adsorción en la interfase aire-agua a pH natural (a) Leche descremada 10 y 25% (b) Soluciones proteínicas LD10%-WPC 5 y 15% y (c) Mezcla de LD10%-Cas-Na1%.

En la Figura 3.4 (a), (b) y (c) se observa la cinética o proceso de adsorción de las muestras que se estudiaron; para todos estos sistemas se observa que no hay un tiempo de inducción prolongado, esto puede explicarse en primer lugar por la concentración, dado que a mayor concentración menor tiempo de inducción. Cuando la concentración de proteína en el seno de

la solución es muy alta, este periodo básicamente no existe (Maldonado, 2006) y en segundo lugar puede deberse también a la escala de tiempo que se utilizó para la medición.

En relación a los periodos de adsorción para leche descremada, a mayor concentración de proteína, el periodo de penetración disminuyó (Figura 3.4a), ya que para LD 10% se da en un tiempo de 60 s y para LD 25% se observa en los 30 s; esto puede deberse a que se satura más rápidamente la interfase y comienza el reacomodo.

Sin embargo, en la cinética de adsorción de las muestras de LD10% reforzadas con concentrado de suero de leche (WPC) 5 y 15% (Figura 3.4b), se observa que se satura más rápido la interfase a menor concentración, dado que se da en 40 s para la muestra que contenía WPC 5% y para LD10%-WPC 15% se obtiene en los 105 s aproximadamente. En este caso, predominan las proteínas con estructura globular (β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, albúmina sérica, componente de secreción y lactoferrina), por ello pueden presentarse los fenómenos de agregación retardando así la adsorción en la interfase aire-agua (Pérez et al., 2009).

En la Figura 3.4c se muestra la cinética de la muestra de LD10% reforzada con caseinato de sodio 1%; se observa que aún no ha alcanzado estabilidad superficial, debido a que la solución de caseinato de sodio solo, necesita un mayor tiempo aproximadamente 1900s (Abascal y Gracia-Fadrique, 2009) para el equilibrio; por lo que la tensión superficial aún sigue disminuyendo; aun así se observa un cambio en la pendiente aproximadamente a los 50 s. Lo anterior puede ser debido a que el caseinato de sodio posee una estructura flexible, es decir, no posee un gran número de estructuras secundarias y permite un mayor reacomodo en la interfase o sea hay una mayor configuración de tren en la interfase aire-agua, sin embargo al exceder la concentración micelar crítica de 0.016 fracción peso (Abascal y Gracia-Fadrique, 2009) y tener más expuestos sus grupos hidrófobos e hidrófilos permiten una mayor interacción y en consecuencia existe la formación de micelas que retardan el proceso de adsorción. De igual manera al poseer una mayor hidrofobicidad las moléculas del caseinato permiten una mayor interacción con el aire, lo que hace que el transporte a la interfase sea más rápido y en consecuencia empieza a disminuir la tensión en mucho menor tiempo, en

comparación a las proteínas con estructura más compacta como las del concentrado de suero de leche.

El pH es uno de los factores que más influyen en la adsorción, sin embargo en este estudio las muestras se realizaron a pH natural por lo que la carga de la molécula permanece negativa (Marinova et al., 2009; Zhang et al., 2004). Marinova et al., 2009 reportó que el Cas-Na se adsorbe más rápidamente a pH natural que a pI y en caso del concentrado de suero de leche a pH natural su estructura permanece nativa al llegar a la interfase, por lo que se adsorbe más lentamente y previene la formación de una capa muy densa.

En este estudio y como lo realizaron Abascal y Gracia-Fadrique, (2009) se determinó la tensión en equilibrio (γ_{eq}), graficando la tensión superficial dinámica $\gamma(t)$ en función de $1/t^{1/2}$ obteniendo una recta cuya ordenada al origen es la γ_{eq} .

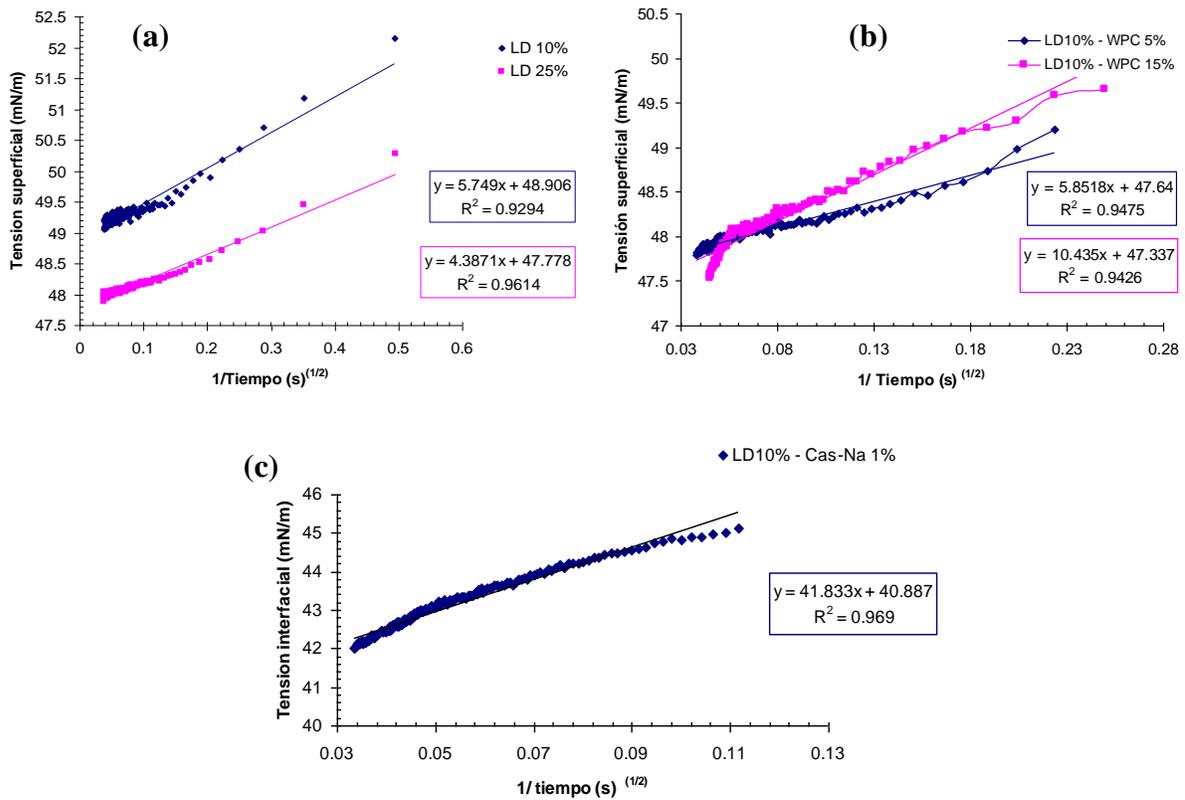


Figura 3.5. Evolución de la tensión superficial en función del inverso de la raíz cuadrada del tiempo, (a) LD, (b) LD10-WPC y (c) LD10-Cas-Na.

La tensión en equilibrio (γ_{eq}) es muy importante ya que está relacionada directamente con la capacidad espumante, es decir, con la capacidad que tienen las muestras para la creación de nuevas áreas y a su vez de burbujas, esta relación se analizará más adelante.

En la Figura 3.5a, se observa que la tensión de equilibrio disminuyó conforme aumentó la concentración, es decir, para la muestra de leche al 10%, se tiene una tensión en equilibrio de 48.91 mN/m, mientras a más alta concentración (LD 25%) se tiene una γ_{eq} de 47.78 mN/m.

En caso de las muestras reforzadas con concentrado de suero de leche a la concentración de 5% la γ_{eq} fue de 47.6 mN/m y a la concentración de 15% la γ_{eq} fue de 47.3 mN/m; se nota que no hay una considerable disminución, una posible explicación es que la concentración es demasiado alta y entonces se forman micelas o agregados y esto hace que ya no disminuya la tensión superficial.

Sin embargo, como se observa en la curva de ajuste en la Figura 3.5c de la muestra de LD10%-Cas-Na 1%, la γ_{eq} es de 40.9 mN/m, la cual es menor a las anteriores, esto es principalmente efecto de la hidrofobicidad. Por ejemplo, las proteínas del caseinato presentan una hidrofobicidad de 1170 a 1335 kcal/residuo, mientras que las proteínas que conforman al concentrado de suero de leche (WPC) poseen una hidrofobicidad de 1053 a 1211 kcal/residuo, la cual es menor a la hidrofobicidad de las fracciones del caseinato de sodio (Badui, 2006).

Hasta este momento sólo se han presentado los resultados de las propiedades de la fase continua, las cuales permitieron un mejor análisis de lo que sucede en la formación y estabilidad de las espumas.

A continuación se presentan los resultados de las propiedades espumantes de las proteínas que se estudiaron.

3.3 Propiedades espumantes

En la actualidad existen diversos alimentos aireados (como el mousse, merengue, helado, crema batida, souffles, malvaviscos) los cuales utilizan como agentes espumantes a las proteínas sobre todo las lácteas por las propiedades que les confieren, por lo cual su estudio es importante.

3.3.1 Capacidad espumante o rendimiento

La capacidad espumante o rendimiento se refiere a la cantidad de área interfacial que puede ser creada por la proteína, es decir, la capacidad de la fase continua para atrapar aire o gas (Badui, 2006; Indrawati et al., 2008). Sin embargo, al igual que otras propiedades depende de factores intrínsecos como el tamaño, la estructura de la proteína, la hidrofobicidad, así como de factores extrínsecos como la concentración, el pH, la temperatura entre otros.

En la Figura 3.6 se presenta la capacidad espumante o rendimiento de las soluciones proteínicas estudiadas en función de la concentración. En general, se observa que a medida que aumentó la concentración de la proteína en la muestra con la que se realizó la espuma, se incrementa el rendimiento. Se ha reportado que la capacidad espumante de una proteína aumenta con la concentración de la misma en la disolución, esto puede ser debido a que aumenta el grado de recubrimiento superficial de las burbujas (Carrera y Rodríguez, 2005), además de que puede aumentar la velocidad con la que se transportan por medio de difusión hacia la interfase aire-agua, como se observó en la tensión superficial de las muestras reforzadas con caseinato de sodio.

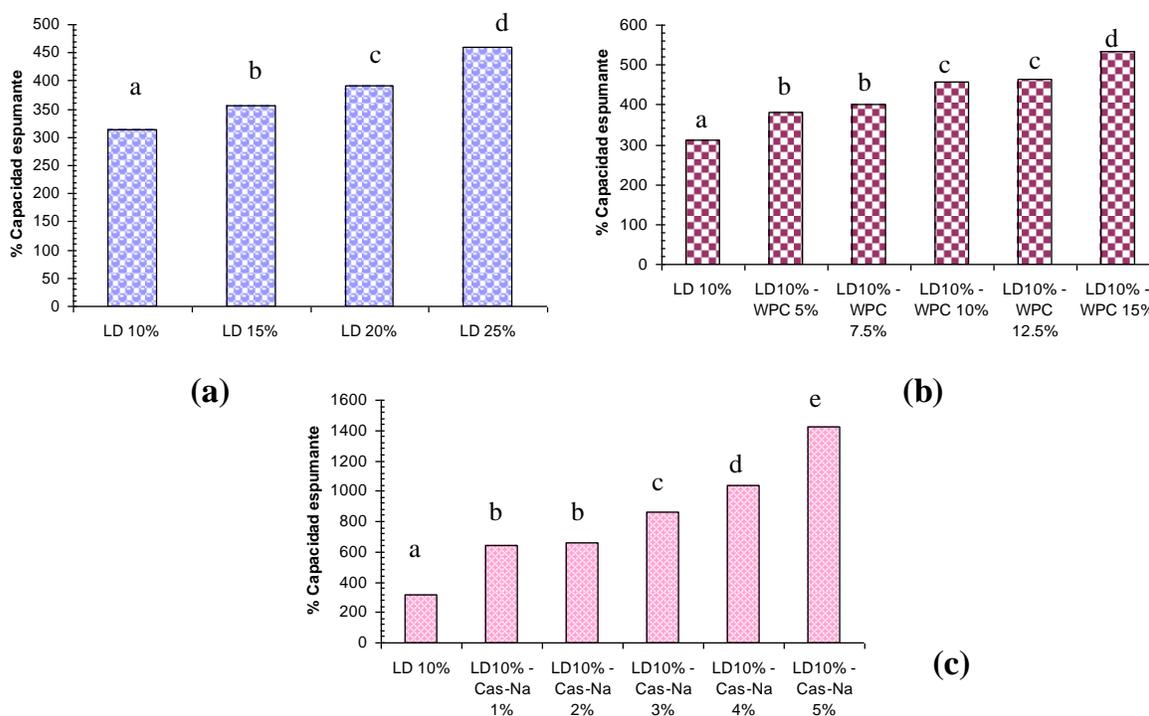


Figura 3.6. Capacidad espumante en función de la concentración de (a) leche descremada (LD) (b) leche descremada adicionada con concentrado de suero de leche (LD10-WP)C y (c) leche descremada adicionada con caseinato de soido (LD10-Cas-Na) (Nota: Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para cada grupo de proteína reforzante).

En la Figura 3.6a, se observa que a la mínima concentración de leche descremada (LD10%) se obtuvo una capacidad de (313%) y al incrementar la concentración el rendimiento incrementó hasta 459% con 25% LD y todas las muestras presentan diferencia significativa ($\alpha < 0.05$), por lo que son diferentes entre sí.

En cuanto a las espumas que fueron reforzadas con concentrado de suero de leche, de igual manera hay un aumento de 381% para la muestra de LD10%-WPC 5% a 534% para la muestra de LD10%-WPC 15% (Figura 3.6b), aunque estadísticamente no se encuentra diferencia entre las concentraciones intermedias, WPC 5% y 7.5% así como la de WPC 10 y 12.5%.

La tendencia a aumentar la capacidad espumante al incrementar la concentración, es más apreciable en las muestras adicionadas con caseinato de sodio (Figura 3.6c). En el análisis estadístico, se revelan diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) entre las diferentes concentraciones agregadas. Por ejemplo, la muestra de LD10%. Cas-Na 1% presenta una capacidad espumante de 643% mientras que la muestra de LD10%-Cas-Na 5% presentó una capacidad espumante de 1422%; sin embargo, estadísticamente la concentración de 1 y 2% son iguales.

Al considerar la concentración de sólidos totales en la capacidad espumante, no se observa una tendencia definida, ya que por ejemplo, cuando en todas las muestras estudiadas se tiene 15% de sólidos, para el caso de LD15% se tiene un rendimiento de 355%, para la muestra reforzada con WPC (5%), se tiene un 381%, mientras que la que contiene caseinato presenta una capacidad espumante de 1423%, lo anterior indicaría que se refuerza la capacidad espumante.

Al realizar una comparación con la tensión superficial en equilibrio evaluada, propiedad que se ve afectada por la estructura e hidrofobicidad de la proteína; se observa que la tensión superficial en equilibrio guarda una relación inversa con la capacidad espumante. Por lo tanto, cuando se tiene un rendimiento alto, la tensión superficial es baja, por ejemplo la muestra de leche descremada (LD10%) presentó la mayor tensión superficial en equilibrio siendo ésta de 48.91 mN/m y muestra la menor capacidad espumante (313%) de todas las espumas realizadas, en comparación a la que menor tensión superficial en equilibrio presentó, que fue la muestra de leche descremada 10% reforzada con caseinato de sodio 1% (40.9 mN/m) y tuvo una capacidad espumante de (642%).

De igual manera, como ya se mencionó, la estructura y el tamaño de las proteínas influye en la capacidad espumante, es conocido que las proteínas flexibles y pequeñas como son los caseínatos (mezcla de α_{s1} -caseína 38.5%, β -caseína 36%, κ -caseína 12.7% y α_{s2} -caseína 10%) al no tener estructura secundaria (excepto la κ -caseína) tienen más expuestos sus grupos hidrófobos y por lo tanto poseen una mayor facilidad de interactuar con las moléculas del aire, haciendo el transporte hacia la interfase más rápido y en consecuencia la capacidad espumante se eleva; en comparación a las proteínas globulares y grandes como las del concentrado de suero de leche (mezcla de β -lactoglobulina y α -lactoalbumina) que provocan una menor disminución en la tensión superficial (Maldonado, 2006) y en consecuencia la capacidad espumante no aumenta.

3.3.2 Densidad de las espumas

En el Cuadro 3.4 se presentan los resultados de la densidad de las espumas que se realizaron, la desviación estándar y el coeficiente de variación. La medición se realizó por diferencia de pesos, a temperatura ambiente.

En el cuadro, se observa que los coeficientes de variación son menores al 10% por lo que los resultados son aceptables, sin embargo el método utilizado no es tan preciso como en el caso de la densidad de la fase continua.

En las mediciones realizadas a las espumas a base de leche descremada no hay una tendencia clara debido a errores experimentales (quedaban espacios huecos en la caja). Aun así se encontraron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$), aunque en el análisis comparativo (Tukey), sólo se muestra diferencia entre la concentración de LD10% y las demás concentraciones (15, 20 y 25%).

En las espumas reforzadas con concentrado de suero de leche, estadísticamente no se encontró diferencia significativa ($\alpha > 0.05$), o sea que el incremento en la concentración no influye en la densidad de las espumas. Por ejemplo, la espuma a base de LD10% -WPC 5% presenta una densidad de 0.1636 g/cm³, mientras que a la mayor concentración se tiene una densidad de 0.1424 g/cm³.

Cuadro 3.4. Efecto de la concentración y tipo de agente espumante en la densidad de las espumas (T_{ambiente}).

Muestra	Densidad (g/cm^3)*	s	% C. V.
LD 10%	0.1546 ^a	0.005	2.93
LD 15%	0.1756 ^b	0.004	2.51
LD 20%	0.1659 ^b	0.001	0.80
LD 25%	0.1712 ^b	0.003	1.55
LD10% - WPC 5%	0.1636 ^a	0.009	5.78
LD10% - WPC 7.5%	0.1585 ^a	0.005	3.31
LD10% - WPC 10%	0.1537 ^a	0.007	4.48
LD10% - WPC 12.5%	0.1496 ^a	0.005	3.59
LD10% - WPC 15%	0.1424 ^a	0.012	8.40
LD10% - Cas-Na 1%	0.1315 ^a	0.006	4.76
LD10% - Cas-Na 2%	0.1131 ^b	0.003	2.40
LD10% - Cas-Na 3%	0.1012 ^b	0.007	7.21
LD10% - Cas-Na 4%	0.0750 ^c	0.001	1.96
LD10% - Cas-Na 5%	0.0693 ^c	0.003	3.66

Nota:* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para cada grupo de proteína reforzante

En cambio para las espumas a base de LD 10% y caseinato de sodio, se observa una disminución de la densidad al aumentar la concentración y estadísticamente se encontraron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$). La espuma reforzada con 1% de caseinato de sodio presenta una densidad de $0.1315 \text{ g}/\text{cm}^3$ y disminuye drásticamente al aumentar de concentración de caseinato de sodio al 5% ($0.0693 \text{ g}/\text{cm}^3$); aunque estadísticamente las concentraciones intermedias son similares, es decir, Cas-Na 2 y 3% son iguales entre sí, pero son diferentes a las concentraciones de Cas-Na 4 y 5%.

En comparación con la densidad de la fase continua, éstas disminuyeron considerablemente en promedio ($0.923 \text{ g}/\text{cm}^3$), obviamente por la incorporación de aire que es menos denso.

En la Figura 3.7 se observa la tendencia de la densidad de las espumas y la relación que tiene con la capacidad espumante. La relación que presenta es inversa, ya que a medida que la densidad disminuyó la capacidad espumante aumentó.

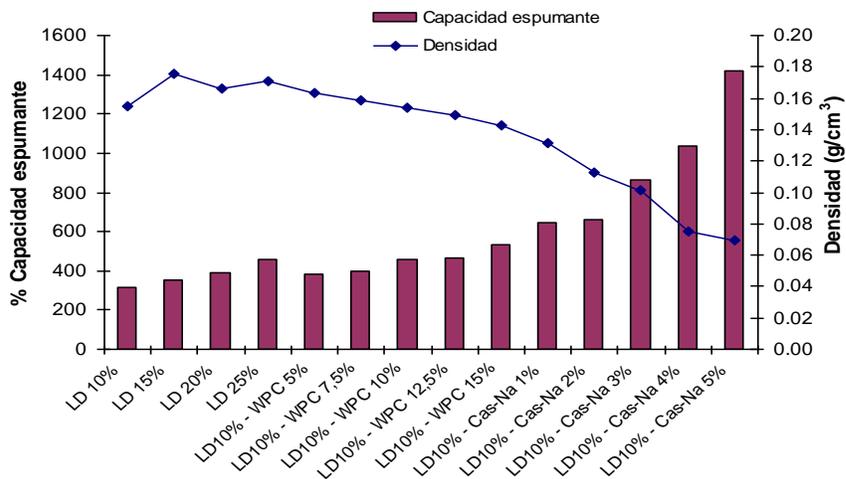


Figura 3.7. Relación de la densidad de las espumas con la capacidad espumante.

En general, se observa que al aumentar la concentración de proteína, disminuye la densidad de la espuma, ello es debido a la introducción de aire durante el batido ya que la constante agitación rompe las burbujas presentes en burbujas de tamaño más pequeño lo que genera un área superficial muy amplia que incrementa a medida que la agitación continua (Vega, 2006).

3.3.3 Diámetro de las burbujas

En la Figura 3.8, se presentan los resultados de las mediciones a los diámetros de las burbujas, se midió el diámetro de las imágenes (inmediatamente después de obtener la espuma y después de 7 minutos de reposo) tomadas con un microscopio. En promedio se tomaron las mediciones de 100 burbujas a cada espuma realizada.

En general, se puede observar en la Figura 3.8 que a medida que se incrementó la concentración, disminuyó el diámetro inicial de las burbujas en las espumas.

El diámetro inicial para la LD10% es de 160.9 μm , que estadísticamente es igual a la espuma realizada con LD15% (146.3 μm), sin embargo al incrementar la concentración a LD20% disminuyó el diámetro inicial (103.4 μm) que estadísticamente es igual al de la espumas realizadas con LD25% (86.81 μm).

Para las espumas realizadas con LD10%-WPC el diámetro inicial disminuyó al incrementar la concentración. Estadísticamente se encontraron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$), el

aumento de concentración de WPC hasta 10%, no produce cambios en el diámetro promedio de burbuja, de 10 a 12.5% disminuye y no hay cambio con 15% (Figura 3.8b).

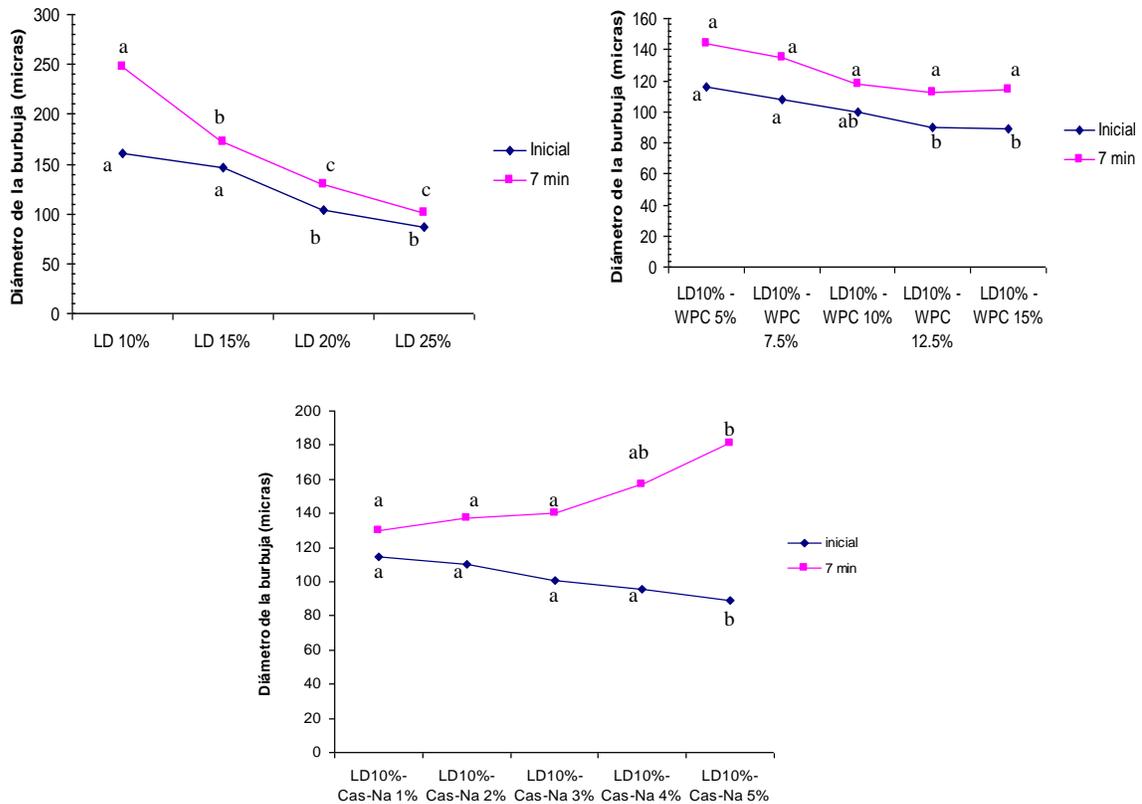


Figura 3.8. Diámetro de las burbujas de las espumas preparadas (a)LD, (b) LD-WPC y (c) LD-Cas-Na
 Nota: Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para cada grupo de proteína reforzante.

Finalmente para las espumas realizadas con LD10%-Cas-Na el diámetro promedio sólo mostró diferencia estadística cuando su concentración fue de 5%, este fue de 89.2 μm (Figura 3.8c).

El diámetro de las burbujas depende de diversos factores como las propiedades fisicoquímica de los agentes espumantes (sobre todo la tensión superficial), el método de obtención de las espuma (como la velocidad y el tiempo de mezclado), entre otros (Ramirez, 1996).

Aunque en este estudio no se varió el tiempo, ni la velocidad del batido, existe una disminución en el diámetro inicial cuando se incrementa la concentración, éste puede atribuirse a la disminución en la tensión superficial, ya que el proceso de adsorción se da de

manera más rápida, permitiendo así la formación de más burbujas con menor tamaño (Norde, 2003), por ejemplo las espumas que menor diámetro inicial presentaron son las de LD10%-Cas-Na ya que son las que menor tensión superficial tienen (40.9 mN/m), en comparación a las espumas de LD y LD10%-WPC.

Con el transcurso del tiempo en la espuma comienzan a ocurrir los mecanismos de desestabilización, por ello se midió el diámetro de la burbuja a los 7 minutos de reposo para observar si existe algún cambio en el diámetro, los resultados se muestran en la Figura 3.8.

Para las espumas realizadas con leche descremada, al incrementar la concentración disminuyó el diámetro a los 7 minutos de reposo, aunque estadísticamente el diámetro de la LD20% y LD25% es igual (Figura 3.8 a).

En relación al diámetro de las espumas reforzada con concentrado de suero de leche no se encontró diferencia estadística ($\alpha > 0.05$), por lo que en este caso no influyó la concentración en el diámetro (en promedio 124.4 μm) después de 7 minutos de reposo (Figura 3.8 b), ello sugiere que el tiempo no fue suficiente para observar algún cambio ya que son más estables que las espumas de leche descremada.

En cuanto a las espumas formadas con LD10%-Cas-Na en la Figura 3.8 c se observa una tendencia a aumentar cuando se incrementó la concentración, estadísticamente los diámetros son iguales cuando la concentración está en un intervalo de 1 a 4% de Cas-Na, pero aumenta el diámetro a los 7 minutos de reposo, para la espuma preparada con la LD10%-Cas-Na5% (181.1 μm), aunque éste es similar al diámetro que se obtuvo de la espuma de LD10%-Cas-Na 4%.

En general los diámetros después de 7 minutos de reposo, son mayores en comparación con los diámetros iniciales, ello es debido principalmente al mecanismo que desestabiliza las espumas llamado maduración de Ostwald, en el cual el gas se difunde de las burbujas de menor tamaño (presión mayor) a las burbujas de mayor tamaño (presión menor), provocando con ello la desaparición de las burbujas de menor tamaño e incrementando el tamaño de las más grandes (Raharitsifa et al., 2006), el fenómeno se visualiza claramente en las Figuras 3.9, 3.10 y 3.11.

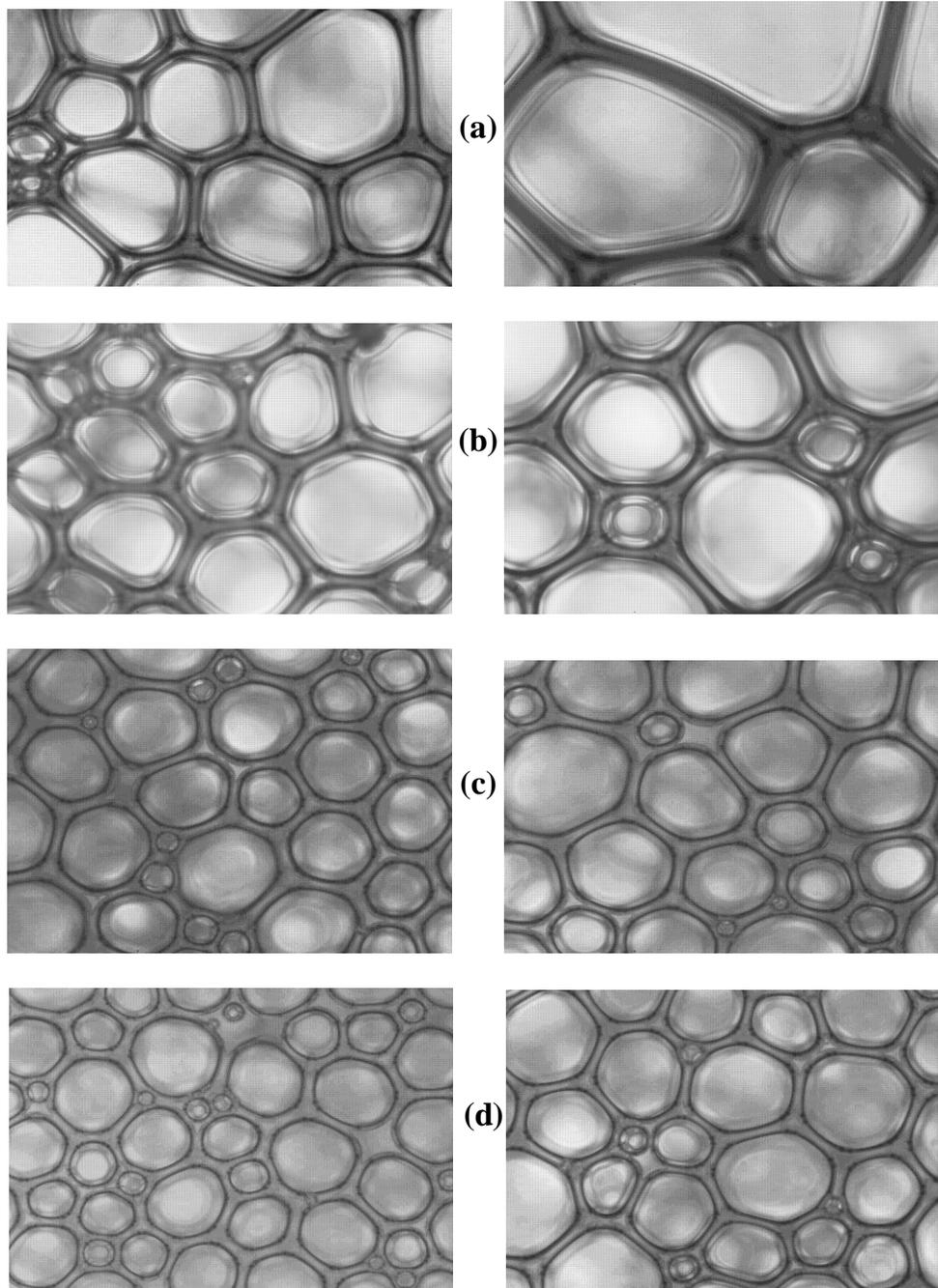


Figura 3.9. Efecto de la maduración de Ostwald en el tamaño de las burbujas, tamaño inicial (izquierda) después de 7 minutos (derecha) (a) LD10%, (b) LD15%, (c) LD20% y (d) LD25%. Tomadas con un microscopio óptico (objetivo 10).

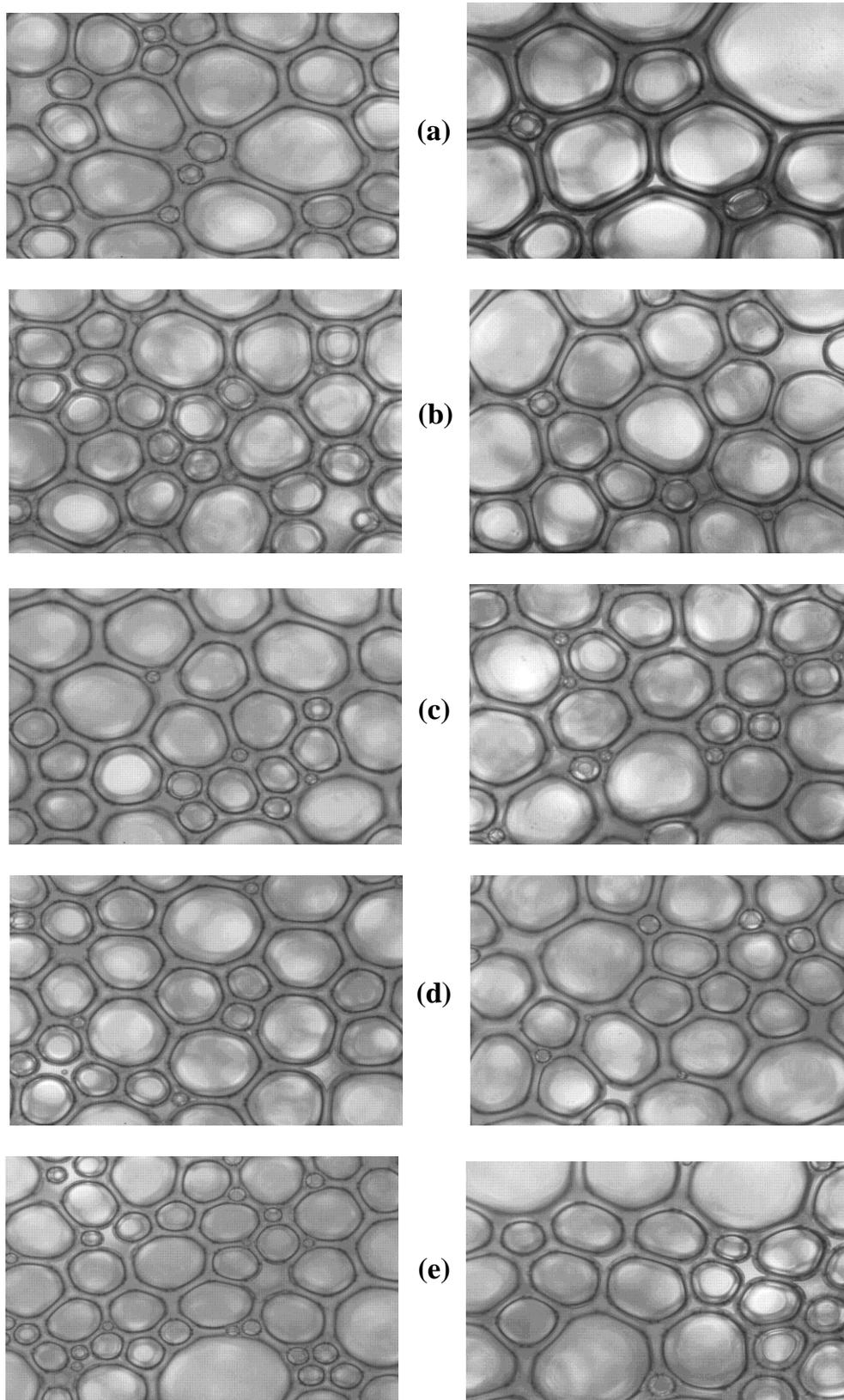


Figura 3.10. Efecto de la maduración de Ostwald en el tamaño de las burbujas, tamaño inicial (izquierda) después de 7 minutos (derecha): (a) LD10%-WPC5%, (b) LD10%-WPC7.5%, (c) LD10%-WPC10%, (d) LD10%-WPC12.5% y (e) LD10%-WPC15%. Tomadas con un microscopio óptico (objetivo 10).

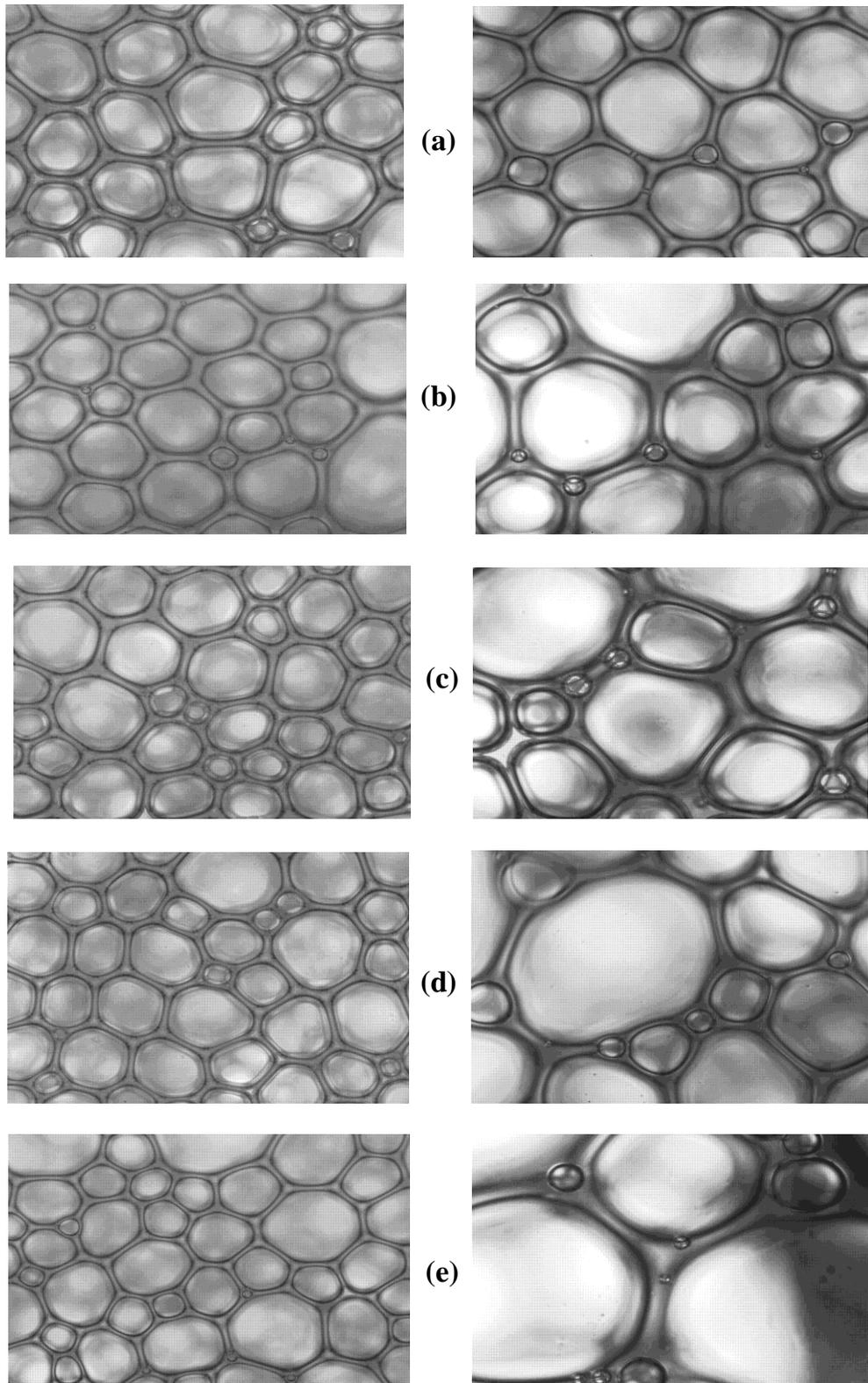


Figura 3.11. Efecto de la maduración de Ostwald en el tamaño de las burbujas, tamaño inicial (izquierda) después de 7 minutos (derecha): (a) LD10%-Cas-Na1%, (b) LD10%-Cas-Na2%, (c) LD10%-Cas-Na3%, (d) LD10%-Cas-Na 4% y (e) LD10%-Cas-Na5%. Tomadas con un microscopio óptico (objetivo 10).

En las Figura 3.9, 3.10 y 3.11 se pueden apreciar los diferentes elementos de la estructura de una espuma, es decir, la burbuja en forma poliédrica debido a la deformación por compresión, la película líquida plana que separa a las burbujas y los bordes de Plateau cuando se juntan tres burbujas.

Como se observa en las Figura 3.9 y 3.10, cuando transcurren los 7 min, el tamaño aumenta en relación al tamaño de las burbujas que tienen inicialmente, ello es debido a la difusión del gas de las burbujas chicas a las grandes como ya se mencionó. Sin embargo, cuando se observa el tamaño de las burbujas a los 7 min, para las espumas de leche descremada puede notarse que a mayor concentración menor tamaño, por lo que puede decirse que al aumentar la concentración aumenta la estabilidad de la película y no permite demasiado la difusión. En cuanto a las espumas que fueron reforzadas con WPC, a medida que se incrementó la concentración el tamaño de las burbujas no varió demasiado, por lo que la película es más estable y dificulta el proceso de difusión de las burbujas chicas a las grandes. En relación a las espumas reforzadas con caseinato de sodio, es muy evidente que a medida que se incrementó la concentración de caseinato de sodio aumentó el tamaño de las burbujas (Figura 3.11), es decir, que la difusión fue mayor al aumentar la concentración. La principal razón de este efecto se debe a que la película que se forma entre las burbujas es inestable y en consecuencia se estira con mayor facilidad (disminuyendo su espesor), evitando que las micelas de las fracciones de caseína, se incrusten entre las colas y bucles que quedan en la fase continua (Radford et al., 2004) haciendo más fácil la difusión debido a que la unión de micelas en la interfase es inestable (Borcherding et al., 2008b).

Finalmente el diámetro y la distribución de las burbujas es una medida para determinar el comportamiento y contribución en la textura de las espumas. Las espumas con burbujas persistentes, pequeñas y uniformes en tamaños se asocian generalmente a productos con buena calidad (Castañeda et al., 2006). Por lo que se puede decir que las espumas reforzadas con concentrado de proteínas del suero de la leche son las que mejores características presentan y por ende son más estables.

3.3.4 Drenado en copas de estabilidad

Una manera sencilla que se utiliza para determinar la estabilidad de una espuma es mediante la medición del líquido drenado. En la Figura 3.12 se muestran las curvas del volumen del líquido drenado en función del tiempo de las espumas realizadas a diferentes concentraciones,

evaluado en las copas de estabilidad. Las curvas muestran un comportamiento sigmoideal, es decir, primero el drenado es lento luego se acelera y finalmente desacelera, éstas se ajustaron a la ecuación 3.1 propuesta por Raharitsifa et al., (2006):

$$V = \frac{V_{m\acute{a}x} t^m}{t_{1/2}^m + t^m} \quad (3.1)$$

donde $V_{m\acute{a}x}$ es el volumen máximo de líquido drenado (30 min), m describe el comportamiento sigmoideal de la curva y $t_{1/2}$ es el tiempo requerido para drenar la mitad del volumen máximo.

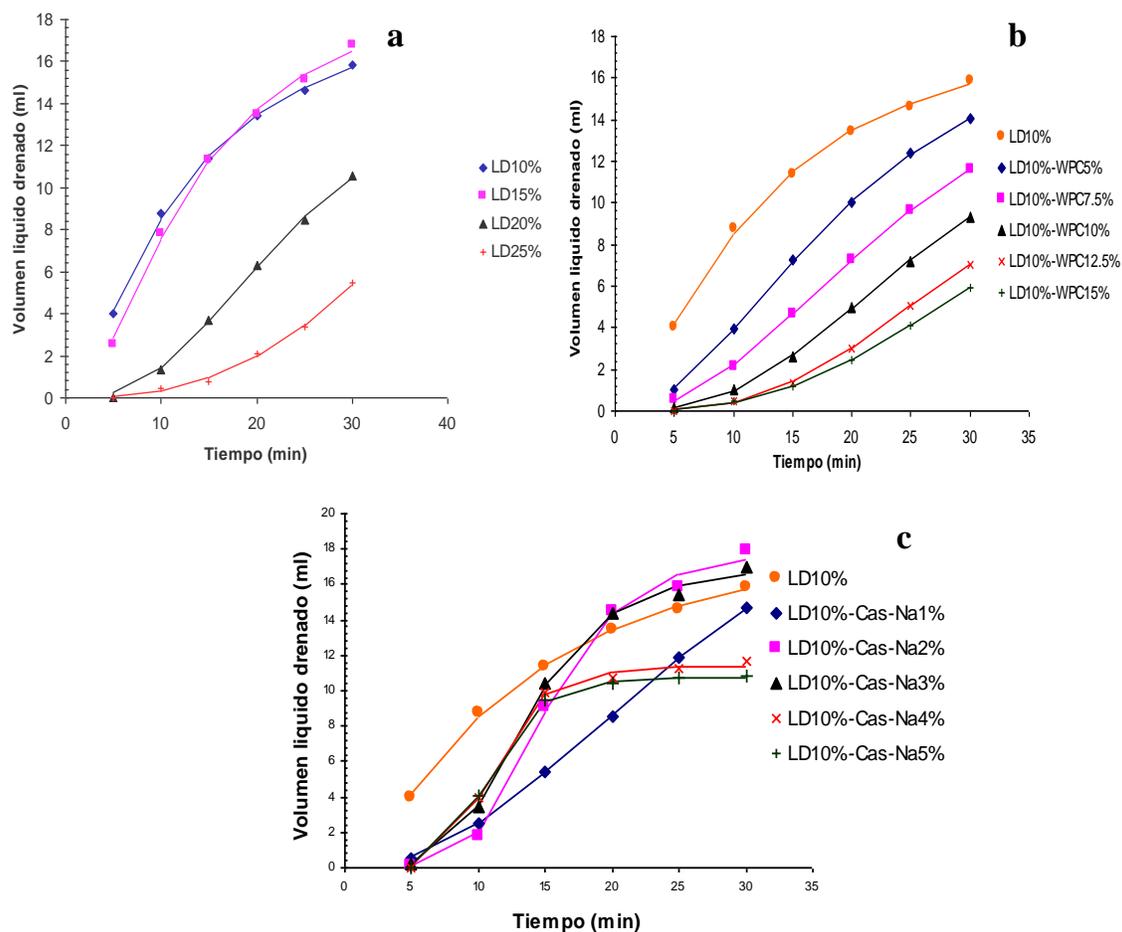


Figura 3.12. Curvas de drenado de las espumas preparadas a diferentes concentraciones con: (a) Leche descrema, (b) LD10% con concentrado de proteína del suero de leche, y (c) LD10% con caseinato de sodio. Símbolo sólido (experimental), línea continua (ajuste) al modelo sigmoideal.

Para la realización del ajuste de las curvas de volumen drenado al modelo sigmoideal, se hizo uso del programa CurveExpert^{MR}, el cual proporcionó los parámetros involucrados en la ecuación 3.1 que define este comportamiento, los resultados se muestran en el Cuadro 3.5.

Cuadro 3.5. Efecto de la concentración y tipo de agente espumante, en los parámetros del modelo sigmoideal, para el drenado de líquido

Espuma a base de solución proteínica	$t_{1/2}$ (min)	$V_{m\acute{a}x}$ (ml)	m
LD 10%	11.85	18.63	1.53
LD 15%	13.01	19.91	1.87
LD 20%	21.60	13.29	3.28
LD 25%	26.48	7.60	4.87
LD10% - WPC 5%	18.23	18.23	2.43
LD10% - WPC 7.5%	22.71	16.30	2.57
LD10% - WPC 10%	23.66	13.04	3.33
LD10% - WPC 12.5%	24.47	9.80	4.39
LD10% - WPC 15%	40.02	6.68	4.53
LD10% - Cas-Na 1%	26.81	24.45	2.44
LD10% - Cas-Na 2%	14.71	16.41	6.07
LD10% - Cas-Na 3%	13.57	16.11	4.81
LD10% - Cas-Na 4%	11.74	10.91	5.93
LD10% - Cas-Na 5%	10.68	10.07	6.41

En la Figura 3.12a y Cuadro 3.5 se observa que a mayor concentración de leche descremada menor volumen de líquido drenado, ya que cuando se tiene una concentración de LD10% se obtuvo un volumen máximo de 18.63 ml que es mayor al volumen de la LD25% (Cuadro 3.5). Sin embargo, comparando las concentraciones de LD10% y LD15% hay mayor volumen de drenado para esta última (Cuadro 3.5), por lo que prácticamente no hay diferencia.

En cuanto al tiempo de vida media es mayor al aumentar de concentración (Cuadro 3.5) para LD10% es de 11.85 min y aumenta a 26.48 min para LD25%.

La forma sigmoideal de las curvas aumenta al incrementar la concentración de leche descremada, es decir, se pronuncia la apariencia de S, ello se comprobó con la m ya que para LD10% es de 1.53 mientras que para LD25% es de 4.87.

En cuanto a las espumas reforzadas con concentrado de suero de leche, a medida que se incrementó la concentración del WPC, menor fue la cantidad de líquido drenado (Figura 3.12b). Para el caso de LD10%-WPC5% se obtuvo un volumen máximo de 18.23 ml, que es mayor en comparación al de la LD10%-WPC15% (6.68 ml).

Con respecto al tiempo de vida media, éste pasó de 18.23 min para la concentración de LD10%-WPC5% a 40.02 min para la espuma formada con LD10%-WPC15%.

El comportamiento sigmoidal (m) incrementó al aumentar concentración, ya que va de 2.43 a 4.53, para la concentración mínima y máxima respectivamente, del concentrado de suero de leche.

La espuma de leche descremada 10% drena un mayor porcentaje de líquido (12.4%) en comparación a todas las espumas reforzadas con el concentrado de suero de leche (4.4 - 12%), por lo tanto se puede decir que esta proteína ayuda a ser más estable la espuma.

Finalmente en la Figura 3.12 c se observa que a mayor concentración de caseinato de sodio mayor forma sigmoidal presentan, dado que la m es de 2.44 para LD10%-Cas-Na1% y 6.41 para la LD10%-Cas-Na5%. El volumen máximo de líquido drenado para la espuma formada con LD10% y caseinato de sodio 1% es de 24.45 ml que es mayor a los que se obtuvo para las espumas formadas con caseinato de sodio al 2 y 3% (16.41 y 16.11 ml respectivamente) y también para las concentraciones de 4 y 5% de caseinato de sodio (10.9 y 10 ml respectivamente); por lo tanto a mayor concentración menor volumen de líquido drenado, esto indicaría que a mayor concentración mayor estabilidad, sin embargo en relación al tiempo de vida media, éste fue menor al aumentar la concentración, por ejemplo para la espuma formada con LD10%-Cas-Na1% el $t_{1/2}$ fue de 26.81 min, mientras que la espuma de LD10%-Cas-Na5% fue de 10.68 min, es decir, que a mayor concentración menor tiempo de vida media y en consecuencia menor estabilidad.

El drenado es una de los mecanismos más comunes de desestabilización ya que desde que comienza la formación de la espuma, ésta se ve sometida a la fuerza de gravedad (Duncan, 1992; Narsimhan y Wan, 1990), que hace que el líquido (fase continua) fluya por las películas que separa a las burbujas, provocando la disminución de presión en los bordes de Plateau y por lo tanto el líquido fluye hacia este punto haciendo la película más delgada y por lo tanto permite una mayor difusión de las burbujas chicas a las grandes, haciéndolas más grandes y trayendo la coalescencia (ruptura de la espuma).

En resumen, para el caso de las espumas realizadas con leche descremada y para las que fueron reforzadas con concentrado de suero de leche, al aumentar de concentración disminuyó el drenado (incrementó la estabilidad), resultados similares fueron encontrados para la espuma de jugo de manzana estabilizada con proteína de huevo (Raharitsifa et al., 2006). Sin embargo para el caseinato de sodio no es así, ya que al aumentar la concentración aumentó el drenado, favoreciendo la difusión de las burbujas chicas a las grandes (Figura 3.11) y ocasionando la

ruptura de la espuma, resultados similares para espumas formadas con β -caseína aparecen en Carrera y Rodríguez (2005).

3.3.4 Estabilidad a través de la dispersión de luz

La estabilidad de las espumas para este proyecto, también fue estudiada en función de los mecanismos de desestabilización, a través de la dispersión de luz (Turbiscan MA 2000). Este instrumento mide la transmisión y retrodispersión de luz, a la que se ve sometida la muestra (espuma) contenida en un tubo (Cox et al., 2009).

Una espuma es un sistema termodinámico inestable, es decir, con el paso del tiempo su estructura va cambiando buscando minimizar la energía del sistema (Dickinson y Dements, 1995), debido a ello comienzan a ocurrir mecanismos de desestabilización. En espumas son principalmente tres los fenómenos que predominan: el drenado del líquido, la maduración de Ostwald y el colapso; a continuación se presenta un resumen con el fin de recordarlos.

Desde la formación de la espuma, ésta se ve sometida a la fuerza de gravedad y dado que la densidad de la espuma es menor a la densidad del líquido que separa las burbujas (fase continua), el líquido tiende a fluir hacia abajo; provocando que las lamelas sean sometidas a una constante fuerza de estiramiento que ocasiona superficies cóncavas, debido a ello la presión que se ejerce en los bordes de Plateau es menor, por lo que el líquido fluye a este punto; a este fenómeno se le denomina drenado del líquido o escurrimiento (Lewis, 1993). Cuando la película que separa a las burbujas es delgada entonces se presenta la difusión de gas entre las burbujas de menor tamaño a las de mayor tamaño, este fenómeno se conoce como maduración de Ostwald y es ocasionada por la diferencia de tamaños de las burbujas en la espuma (Figuras 3.9 a 3.11), y a su vez por el gradiente de presión, ya que éste depende del radio de la burbuja según la ecuación de Laplace (Maldonado, 2006). Finalmente cuando ya no existe la película que separa las burbujas entonces se rompe la espuma a ello se le llama colapso.

El Turbiscan MA2000, ha sido utilizado para estudios de estabilidad en emulsiones y dispersiones coloidales (Mengual et al., 1999; Lemarchand et al., 2003), sin embargo para espumas no ha sido muy usado. A continuación se muestran algunos ejemplos de los perfiles de transmisión y retrodispersión de las espumas en estudio.

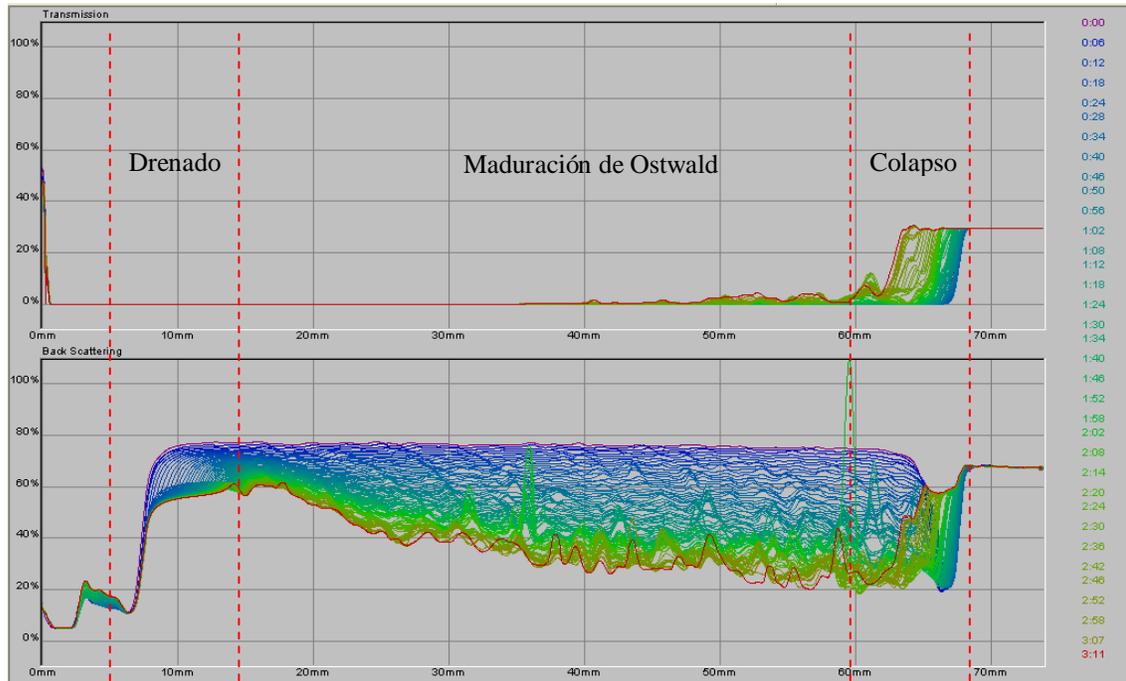


Figura 3.13. Transmisión y retrodispersión de la espuma a base de leche descremada al 25%. Estos datos se representan como función del tiempo (0:00 a 3:00 horas) y de la altura de la muestra (6.5 a 70 mm).

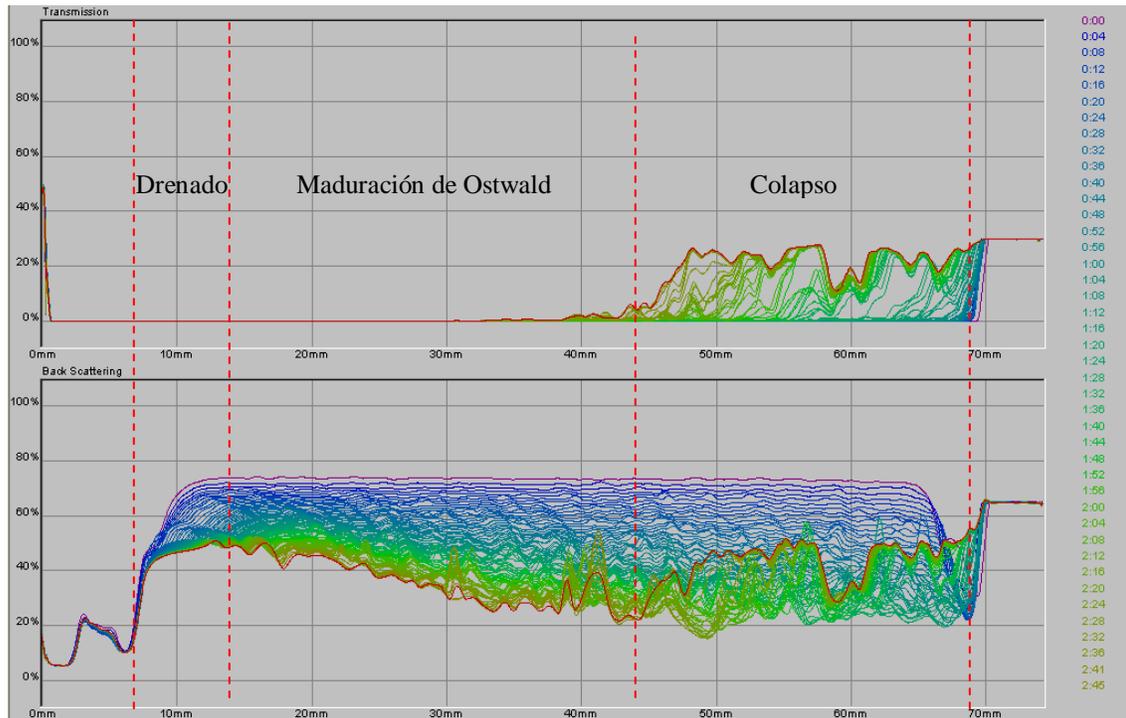


Figura 3.14. Transmisión y retrodispersión de la espuma a base de leche descremada 10% y concentrado del suero de la leche 15%. Estos datos se representan como función del tiempo (0:00 a 3:00 horas) y de la altura de la muestra (6.5 a 70 mm).

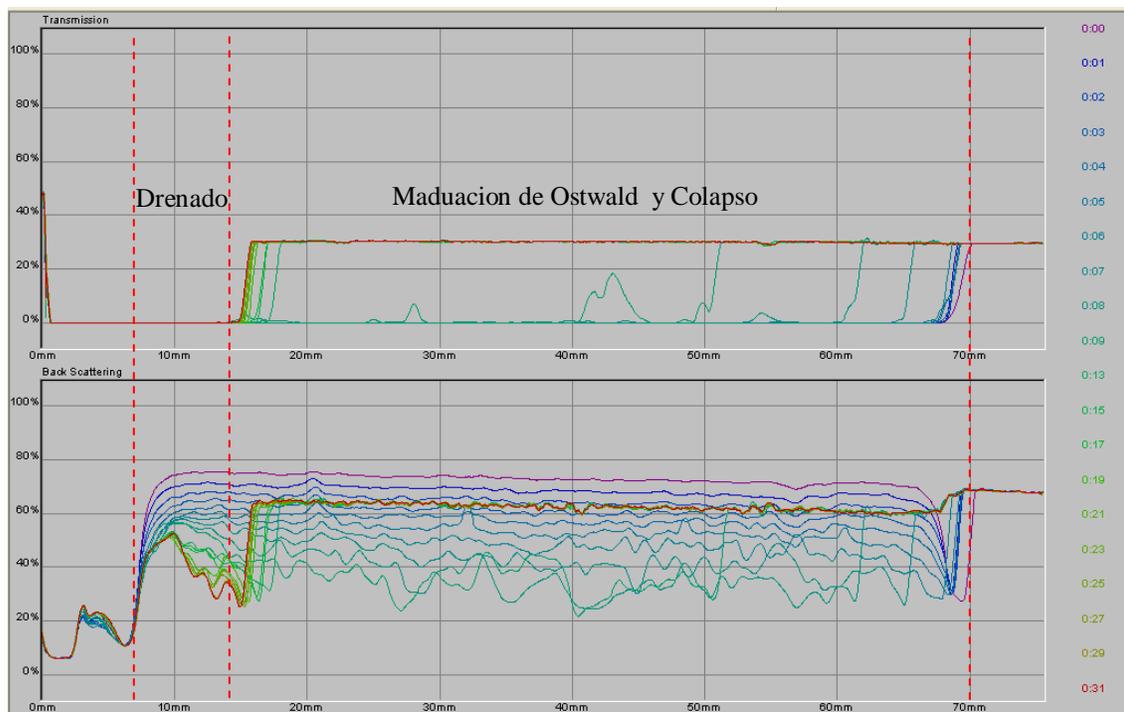


Figura 3.15. Transmisión y retrodispersión de la espuma a base de leche descremada 10% reforzada con caseinato de sodio 1%. Estos datos se representan como función del tiempo (0:00 a 0:30 horas) y de la altura de la muestra (6.5 a 70 mm).

En la Figura 3.13 se muestra la evolución de la espuma a base de leche descremada 25% en función del tiempo; de igual manera en la Figura 3.14 se muestra el perfil de transmisión y retrodispersión de la espuma de LD10% reforzada con concentrado de suero de leche 15%, los cuales se obtuvieron de realizar 90 lecturas (barridos), una cada 2 minutos. Además se presenta el perfil de LD10% adicionada con caseinato de sodio 5%, el cual se obtuvo de realizar 30 lecturas (barridos), una cada 2 minutos.

Cuando la espuma está recién formada el tamaño de las burbujas es uniforme y las burbujas se encuentran amontonadas, dándoles forma poliédrica (por la compresión). Estas características no permiten el paso de luz en forma de fotones a través de la espuma, es decir, no hay transmisión (T) y el primer escaneo se da por la incidencia de luz en retrodispersión (BS).

Con el transcurso del tiempo comienza a desestabilizarse la espuma; primero se da una evaporación del líquido que separa a las burbujas a la atmósfera, sobre todo en la parte superior de la espuma, ello hace que las películas se adelgacen permitiendo la difusión de las burbujas pequeñas a las grandes (maduración de Ostwald), ocasionando el colapso; por eso la

señal de retrodispersión (BS), va disminuyendo e incrementa la señal de luz de transmisión (T), sobre todo en la parte superior del tubo.

Se puede observar que en el caso de la leche descremada al 25% el colapso se encuentra entre los 59 a 70 mm de espesor del cilindro (Figura 3.13) y la maduración de Ostwald entre los 16 y 59 mm. La zona en la que se observa el aumento del tamaño de las burbujas para la espuma de leche descremada, es mayor en comparación a la espuma reforzada con concentrado de suero de leche 15%; ya que el incremento de tamaño de las burbujas, se ve entre los 15 y 45 mm; por otro lado el colapso se puede observar entre los 45 y 70 mm de la muestra (Figura 3.14), que en comparación a las espumas de leche descremada, es menor para esta última. Sin embargo para la espuma adicionada con caseinato de sodio 1% (Figura 3.15), no se pueden identificar los fenómenos por separado ya que son muy rápidos y ocurren simultáneamente, por ello sólo se ha identificado una zona en la cual se observan ambos mecanismo maduración y colapso (15 a 70 mm).

El drenado es el otro mecanismo que afecta la estabilidad de las espumas, el cual ocurre al mismo tiempo que la maduración y el colapso, ya que éstos originan curvaturas en las películas que separan a las burbujas generando un gradiente de presión en las películas y por lo tanto el líquido comienza a fluir. Este fenómeno sólo se observa en retrodispersión (BS), ya que el líquido es opaco y no permite el paso de luz. En todos los casos se identificó por la formación de un pico entre los 6.5 y 15 mm aproximadamente, de la muestra en el tubo.

A partir de los perfiles de retrodispersión y transmisión se cuantificó la estabilidad, es decir, se obtuvieron cinéticas de drenado, maduración de Ostwald y colapso. De las cuales se obtuvieron velocidades y parámetros que describen estos fenómenos de desestabilización.

En la Figura 3.16 se muestran las curvas de espesor de la zona de drenado en función del tiempo para LD y LD10%- Cas-Na. Se observa, que las espumas de leche descremada así como las reforzadas con caseinato de sodio, se ajustaron a un modelo lineal, por lo cual la pendiente es la velocidad de drenado. Ésta se define como la evolución temporal de la anchura del pico de luz retrodispersada o transmitida. A su vez la anchura del pico de luz retrodifundida o transmitida al 50% de la altura máxima del pico en mm/min (Carrera y Rodríguez, 2005; Maldonado, 2006). Cabe mencionar que la velocidad de maduración de Ostwald y la de colapso, se obtuvieron realizando este mismo procedimiento.

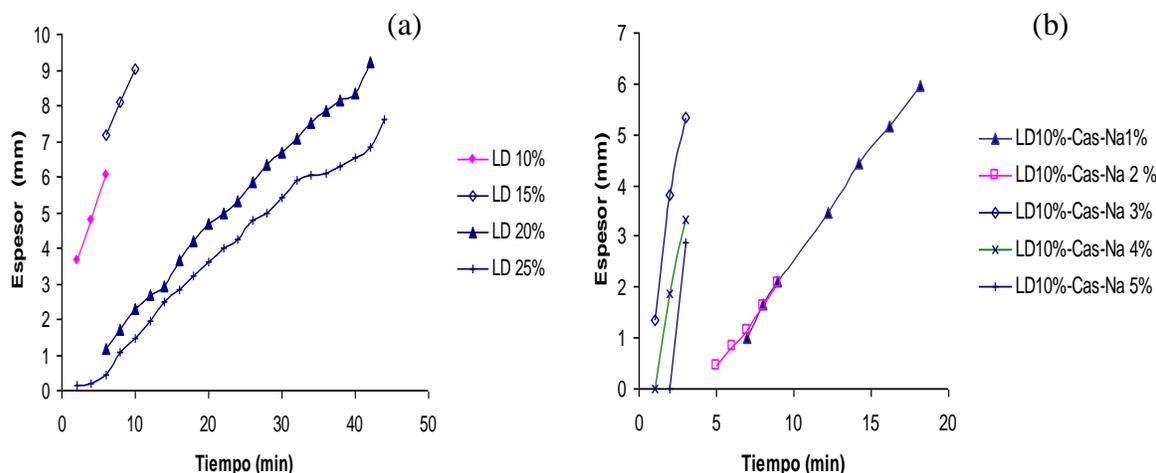


Figura 3.16. Cinética de drenado a) leche descremada, b) LD10% con caseinato de sodio, obtenidas del Turbiscan, MA2000.

En el Cuadro 3.6 se muestran las velocidades obtenidas de los mecanismos que desestabilizan las espumas a base de leche descremada.

En general se observa que a medida que incrementó la concentración de leche descremada, disminuyó la velocidad con la que ocurre el drenado, sucede lo mismo para la velocidad con la que incrementan las burbujas su tamaño. En este caso sólo se cuantificó el colapso en la espuma a base de leche descremada al 10%, ya que las demás espumas no presentan colapso.

Cuadro 3.6. Velocidades de los mecanismos de desestabilización de las espumas de leche descremada.

Espuma a base solución proteínica	Drenado (mm/min)	Maduración de Ostwald (mm/min)	Colapso (mm/min)
LD 10%	0.36	0.35	0.28
LD 15%	0.33	0.09	-
LD 20%	0.25	0.11	-
LD 25%	0.20	0.02	-

La maduración de Ostwald o desproporción disminuye al aumentar la concentración, sobre todo al comparar LD10% con LD25%; sin embargo entre LD15 y LD20% se ve un aumento, esto se debe a errores experimentales ya que no se pudo controlar el tamaño de la muestra inicial en el tubo (se supone que siempre debe ser la misma), además de que en algunos casos quedaban huecos en la muestra colocada en el tubo.

Como se observa en el Cuadro 3.6 las velocidades con las que se difunde el gas de las burbujas chicas a las grandes son mucho menores a las velocidades de drenado, lo cual indica que predomina el fenómeno de drenado, en las espumas a base de leche descremada en polvo.

En el Cuadro 3.7 se muestran las velocidades de los mecanismos de desestabilización de las espumas de leche descremada 10% reforzadas con caseinato de sodio.

En general se observa que a medida que incrementó la concentración de caseinato de sodio, aumentaron las velocidades de los fenómenos que la desestabiliza a la espuma.

Cuadro 3.7. Velocidades de los mecanismos de desestabilización de las espumas reforzadas con caseinato de sodio.

Espuma a base solución proteínica	Drenado (mm/min)	Maduración de Ostwald (mm/min)	Colapso (mm/min)
LD10- Cas-Na 1%	0.40	3.17	
LD10- Cas-Na 2%	0.41	4.62	0.94
LD10- Cas-Na 3%	2.19	15.81	2.36
LD10- Cas-Na 4%	2.71	29.04	7.82
LD10- Cas-Na 5%	3.54	51.58	17.01

Al incrementar la concentración mayor fue la velocidad a la cual se difunde el gas de las burbujas chicas a las grandes y por lo tanto también más rápido colapsaron las espumas. Como se observa en el Cuadro 3.7, las velocidades de maduración de Ostwald son mucho mayores que las de drenado, predominando así este fenómeno en las espumas reforzadas con caseinato de sodio, lo anterior concuerda con los resultados obtenidos al medir el diámetro de las burbujas.

Comparando las velocidades de desestabilización de las espumas reforzadas con caseinato de sodio y las de la leche descremada, se observa que son mayores en las espumas reforzadas con caseinato de sodio, lo cual indica que son menos estables.

Sin embargo las espumas de LD10% adicionadas con concentrado de suero de leche presentaron un comportamiento logarítmico, es decir, el drenado fue primero rápido y después desaceleró (Figura 3.17). A continuación se muestra la ecuación a la cual se ajustaron:

$$X = m \ln(t) - X_0 \quad (3.2)$$

donde X espesor en mm, m es la pendiente (mm/lnmin), t es el tiempo (min) y X_0 es espesor del fenómeno de desestabilización en el tiempo $t=1$ min.

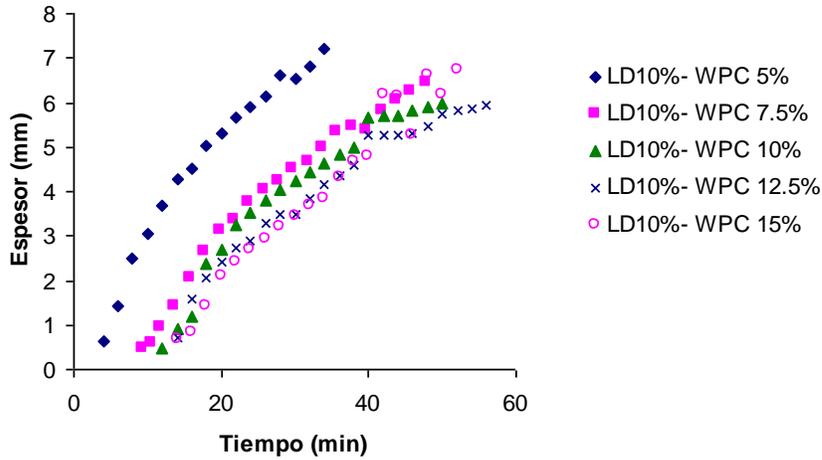


Figura 3.17. Cinética de drenado de LD10% con concentrado de suero de leche, obtenidas del Turbiscan, MA2000.

La determinación del tiempo de inicio del mecanismo de desestabilización (t_i), se obtuvo de suponer que el espesor (X) es igual a cero y despejando de la ecuación 3.2; resultando la siguiente expresión:

$$t_i = e^{X_0/m} \quad (3.3)$$

donde t_i es el tiempo en el que inicia el mecanismo de desestabilización (drenado o maduración de Ostwald), X_0 es el valor de la ordenada al origen y m es la pendiente de la ecuación que describe el comportamiento logarítmico.

Cabe mencionar que la cinética de maduración de Ostwald y la del colapso, presentaron los mismos comportamientos que la velocidad de drenado, por lo tanto se realizó el mismo procedimiento para su obtención.

En el Cuadro 3.8 se muestran los parámetros que se obtuvieron de la cinética de drenado de las espumas reforzadas con concentrado de suero de leche (WPC35).

El espesor de drenado en el minuto 1 (X_{1min}) es menor al incrementar la concentración, ya que estos valores son negativos por la ecuación (3.2), lo cual indica que en 1 minuto aún no se ha iniciado el drenado.

Cuadro 3.8. Parámetros obtenidos de las cinética de drenado para las espumas a base de LD10% y concentrado de suero de leche.

Espuma a base solución proteínica	$X_{1 \text{ min}}$ (mm)	t_i (min)	X a los 15 min (mm)
LD10- WPC 5%	-3.98	3.80	4.10
LD10- WPC 7.5%	-6.93	6.64	2.98
LD10- WPC 10%	-8.27	8.29	2.30
LD10- WPC 12.5%	-9.87	11.43	1.09
LD10- WPC 15%	-13.65	11.49	1.50

El tiempo en el que inicia el drenado es mayor al incrementar la concentración de WPC, lo que indica son más estables las espumas; de igual manera se obtuvo el espesor que se tenía de líquido drenado a los 15 minutos, éste fue menor al incrementar la concentración, aunque en las dos últimas concentraciones no se aprecia esta tendencia y eso se debe a errores experimentales como los que ya se mencionaron.

En el Cuadro 3.9 se muestran los parámetros que se obtuvieron de la cinética de maduración de Ostwald, de las espumas reforzadas con concentrado de suero de leche (WPC35).

Cuadro 3.9. Parámetros obtenidos de las cinética de maduración de Ostwald para las espumas a base de LD10% y concentrado de suero de leche.

Espuma a base solución proteínica	$X_{1 \text{ min}}$ (mm)	t_i (min)
LD10- WPC 5%	-83.39 ^a	43.59
LD10- WPC 7.5%	-80.72 ^a	39.41
LD10- WPC 10%	-74.85 ^a	32.50
LD10- WPC 12.5%	-95.91 ^a	55.03
LD10- WPC 15%	-121.40 ^a	45.66

Nota: Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para la maduración de Ostwald.

El espesor en el minuto 1 (X_{1min}), va disminuyendo debido a que los valores son más negativos por la ecuación (3.2). El tiempo en el que inicia la desproporción en las espumas con WPC, no muestra una tendencia clara debida a errores experimentales, sin embargo en general es mayor el tiempo en el que inicia el fenómeno de maduración de Ostwald, lo cual indica que son más estables. Estos resultados concuerdan con el diámetro de las burbujas a los 7 minutos, ya que la concentración en los intervalos estudiados no influye en este mecanismo de desestabilización.

En resumen, para las espumas de leche descremada a mayor concentración menor velocidad de drenado, ya que ésta pasó de 0.20 a 0.36 mm/min, para LD25% y LD10%, respectivamente. En relación a la velocidad con la que las burbujas crecen de tamaño, de igual manera disminuye al aumentar de concentración. Por ejemplo, para la espuma de LD10% la velocidad de maduración de Ostwald fue de 0.35 mm/min que es mayor a la velocidad de la espuma de LD25% (0.02 mm/min). La velocidad de colapso sólo se cuantificó para la espuma de leche descremada 10% y fue de 0.28 mm/min. Por lo tanto se puede concluir que a mayor concentración, mayor estabilidad, para las espumas formadas a base de leche descremada. La principal razón de esto, es debido a que la película que separa a las burbujas es más resistente a los constantes estiramientos a los que se ve sometido durante su vida.

En cuanto a las espumas que fueron reforzadas con concentrado de suero de leche, presentan un comportamiento similar al de la leche descremada, es decir, la estabilidad incrementa al aumentar la concentración de WPC. Aunque en este caso no se determinaron las velocidades, se obtuvieron los tiempos en los cuales comienzan los fenómenos a desestabilizar la espumas. Por ejemplo para que comience el drenado en la espuma que fue reforzada con 5% de WPC, se necesita un tiempo de 3.8 min, que es menor al que se necesita para la espuma de LD10-WPC15% (11.49 min). El tiempo para que se presente el fenómeno de difusión de las burbujas chicas a las grandes, como ya se mencionó no presenta una tendencia clara, sin embargo es considerablemente más grande que el tiempo para que inicie el drenado.

Las espumas reforzadas con caseinato de sodio muestran un comportamiento opuesto a los casos anteriores, ya que al aumentar la concentración de la proteína (caseinato de sodio), la estabilidad disminuyó. La velocidad de drenado pasó de 0.4 a 3.54 mm/min, al incrementar la concentración de caseinato de sodio de 1 a 5%. Ocurre lo mismo para la velocidad con la que incrementan de tamaño las burbujas, dado que es de 3.17 mm/min para la espuma con 1% de caseinato y 51.58 mm/min para la espuma con 5% de caseinato.

Comparando las velocidades de los mecanismo, se puede afirmar que el fenómeno que predomina en las espumas reforzadas con caseinato de sodio, es la difusión de las burbujas chicas a las grandes (maduración de Ostwald), resultados similares para la β -caseína aparecen en Maldonado (2006); Carrera y Rodríguez, 2005; en dichos estudios encontraron que el mecanismo de desestabilización que predomina es la maduración de Ostwald.

Conclusiones

Las propiedades físicas y fisicoquímicas de la fase continua tuvieron una relación directa con la concentración de sólidos. La densidad y viscosidad aumentaron al incrementar la concentración de sólidos en el seno de la muestra, el pH disminuyó ligeramente al aumentar la concentración de sólidos.

La tensión superficial es la propiedad más importante de la fase continua, ya que influye de manera directa, en las propiedades espumantes. En general para todos los casos estudiados, disminuyó al aumentar la concentración de proteína en el seno de la muestra.

Con la tensión superficial se pudo obtener una idea del proceso de adsorción que siguen las diferentes proteínas (globulares y flexibles) en la interfase aire-agua; se mostró que debido a las concentraciones tan altas que se estudiaron, el tiempo de inducción fue demasiado corto, por lo que no se identificó. La etapa de penetración se modificó para cada agente espumante estudiado; para las soluciones de leche descremada disminuyó el tiempo (60 a 30 s) con el cual se difunde la proteína a la interfase, al aumentar la concentración (10 a 25%). En cambio para las que fueron reforzadas con concentrado de proteína del suero de leche, a mayor concentración de proteína, mayor fue el tiempo que tardó en difundirse a la interfase (40 a 105 s), lo cual se atribuye a las elevadas concentraciones estudiadas (5 a 15%), que pueden generar el fenómeno de agregación. La muestras adicionada con caseinato de sodio 1%, mostró un periodo de adsorción y reacomodo grande, debido a que se excedió la concentración micelar crítica, lo que retarda la adsorción; sin embargo, se conoce que por su estructura flexible acomoda mejor en la interfase en comparación a las proteínas globulares.

La capacidad espumante incrementó al aumentar la concentración de proteína en la muestra (para todos los casos), esto fue debido a que disminuyó la tensión superficial de equilibrio, lo que permite la creación de nuevas áreas y en consecuencia la formación de burbujas. Aunque el efecto de la concentración en esta propiedad, se eleva en las espumas reforzadas con caseinato de sodio, ya que son las que presentaron mayores rendimientos.

Caso contrario a la densidad de las espumas, ya que disminuye al aumentar la concentración, y dado a la relación inversa que guarda con la capacidad espumante, de igual manera se nota mayor el efecto en las espumas adicionadas con caseinato de sodio.

En cuanto al diámetro de las burbujas, inicialmente disminuye al incrementar la concentración de proteína; sin embargo, después de 7 minutos de reposo el diámetro de la burbuja incrementa, aunque en las espumas de leche descremada y las reforzadas con concentrado de suero, disminuye el diámetro al incrementar la concentración. Lo inverso ocurrió para las espumas adicionadas con caseinato de sodio, ya que al incrementar la concentración aumentó drásticamente el diámetro (7 min).

La estabilidad medida a través de los mecanismos de desestabilización, fue la propiedad en la que se percibió mucho más el efecto de la concentración y el tipo de agentes espumante. Para las espumas de leche descremada y aquellas que se reforzaron con concentrado del suero de leche, al incrementar la concentración disminuyeron las velocidades de los fenómenos de desestabilización (drenado, maduración de Ostwald y colapso). En cambio la estabilidad de las espumas adicionadas con caseinato de sodio disminuyó, al incrementar la concentración y el fenómeno que predomina es la difusión del aire de las burbujas chicas a las grandes.

Por lo tanto, la capacidad espumante presentó una relación directa con la velocidad de adsorción, es decir, con la rapidez de las proteínas para migrar a la interfase aire-agua, así como de la habilidad para reducir la tensión superficial. En cambio, la estabilidad de las espumas (medida a través de los fenómenos de desestabilización), se asume que se debe a las propiedades de la interfase formada.

Recomendaciones

La determinación de las características interfaciales de la película que separa a las burbujas, es punto clave para el estudio de la estabilidad de espumas, como función de los mecanismos de desestabilización (maduración de Ostwald, drenado y colapso). Sobre todo la evaluación de los módulos de elasticidad y viscosidad, propiedades dilatacionales que se encuentran íntimamente interrelacionados con la estabilidad; debido a la relación que guarda la resistencia de la película a deformarse con el tiempo, con dichos parámetros. Es conocido que a mayor elasticidad, la resistencia de la película a deformarse y regresar a su estado original incrementa, por esta razón la estabilidad de la espuma aumenta. De igual manera una alta viscosidad de la interfase, permite que se retarden los fenómenos, haciendo más estables a las espumas. La recomendación es evaluar las características interfaciales de la película, ya que ayuda a determinar como afecta la concentración en la estabilidad.

La leche descremada y el concentrado del suero de leche, son ideales para la elaboración de espumas, debido a que proporcionan una buena capacidad espumante y estabilidad, sin embargo la leche descremada es más cara (\$38.5/kg), que el concentrado del suero de leche (\$19.50/kg), por lo que la sugerencia es que se utilice este último como agente espumante.

Referencias

- Abascal D.M., Gracia-Fadrique J. (2009). Surface tension and foam stability of commercial calcium and sodium caseinates. *Food Hydrocolloids*, 23, 1848–1852.
- Alais, CH. (1985). *Ciencia de la leche*. Reverté. España.
- Alvarado, J. (2001). *Métodos para medir propiedades físicas en la industria de alimentos*. Acribia, S.A., España.
- Badui S. (2006). *Química de los alimentos*. 4ª ed. Pearson Educación. México.
- Battaner A. E. (1993). *Biomoléculas*. Ediciones Universidad de Salamanca. España.
- Beverung C.J., Radke C.J., Blanch H.W. (1999). Protein adsorption at the oil/water interface: characterization of adsorption kinetics by dynamic interfacial tension measurements. *Biophysical Chemistry*, 81, 59-80.
- Boatella, R.J. (2004). *Química y bioquímica de los alimentos II*. Ediciones Universitarias. España.
- Borcherding K., Lorenzen P. C., Hoffmann W., Schrader K. (2008a). Effect of foaming temperature and varying time/temperature-conditions of pre-heating on the foaming properties of skimmed milk. *International Dairy Journal*, 18, 349–358.
- Borcherding K., Lorenzen P. C., Hoffmann W., Schrader K. (2008b). Effect of milk homogenization and foaming temperature on properties and microstructure of foams from pasteurized whole milk. *Food Science and Technology*, 41, 2036-2043.
- Carrera S. C., Rodríguez P.J.M. (2005). Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 407–416.
- Casanovay H.S., Cardonat C.S. (2005). Emulsiones o/w estabilizadas con caseinato de sodio: efecto de los iones calcio, concentración de proteína y temperatura. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 11, (1), 13-19.
- Caseli L., Masui C.D., Prazeres M.R., Leone F.A., Zaniquelli D.E. (2005). Adsorption kinetics and dilatational rheological studies for the soluble and anchored forms of alkaline phosphatase at the air/water interface. *Journal Brazilian Chemistry Society*, 16, (5), 969-977.
- Castañeda C.E., Courtois F., Relkin P. (2006). Cuantificación de la persistencia y homogeneidad de espumas mediante procesamiento de imágenes. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5, (2), 147-155.
- Castellan W. Gilbert (2000). *Fisicoquímica*. 2ª ed. Pearson Educación. México.

- Cheftel J., CUQ, J., Lorient D. (1989). *Proteínas alimentarias: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional, modificaciones químicas*. Acribia, S.A. España.
- Cox, R.A., Aldred L.D., Russell B.A. (2009). Exceptional stability of food foams using class II hydrophobin HFBII. *Food Hydrocolloid*, 23, 366–376.
- Davis J.P., Foegeding E.A. (2007). Comparisons of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54, 200-210.
- Devore J.L. (2005). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. 6ª ed. Thomson, México.
- Dickinson D. J., Demets M.C. (1995). *Advances in Food Colloids*. McGraw-Hill Academic Professional. USA
- Duncan J.S. (1992). *Introduction to colloid and surface chemistry*. 4ª ed. Butterworth Heinemann. USA.
- Eisner M.D., Jeelani S.A.K., Bernhard L., Windhab E.J. (2007). Stability of foams containing proteins, fat particles and nonionic surfactants. *Chemical Engineering Science*, 62, 1974 – 1987.
- Fennema R.O. (2000). *Química de los alimentos*. 2ª ed. Acribia, S.A. España.
- Fernández J.I. (2003). Polímeros en solución y aplicación de los polímeros en la industria petrolera. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4, 37-50. Disponible en: <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/publicados/fernandez.pdf>
- Fong A. P. (2007). *Colloid and surface: Research trends*. Nova Publishers. USA.
- German J.B. (1990). Properties of stabilizing components in foams. En Food emulsion and foam: theory and practice, (Wan P.J). Pp. 62-69 *American Institute of Chemical Engineering*, USA.
- Guyomarc'h F., Nono M., Nicolai T., Durand D. (2009). Heat-induced aggregation of whey proteins in the presence of κ -casein or sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 23, 1103–1110.
- Hartel W. R. (1992). *Physical chemistry of foods*. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Hettiarachchy N.S., Ziegler R.G. (1994). *Protein functionality in food system*. Marcel Dekker, Inc. USA.

- Indrawati L., Wang Z., Narsimhan G., Gonzalez J. (2008). Effect of processing parameters on foam formation using a continuous system with a mechanical whipper. *Journal of Food Engineering*, 88, 65–74.
- Jirgensons B. (1958). *Organic colloids*. Elsevier Publishing Company. USA.
- Lemarchand C., Couvreur P., Vauthier C., Costantini D., Gref R. (2003). Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan. *International Journal of Pharmaceutics*, 254, 77–82.
- Lewis M.J. (1993). *Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas procesados*. Acribia, S.A. España.
- López A., García G.M., Quintero R.R., López-Munguía C.A. (2000). *Biotechnología alimentaria*. Limusa. México D.F.
- López C. (2007). *Estudio del comportamiento interfacial de películas de proteínas de interés alimentario: Adsorción y Caracterización reológica*. Tesis doctoral. Sevilla España.
- Maldonado V.J. (2006). *Caracterización interfacial de proteínas y tensoactivos: aplicación a dispersiones alimentarias*. Tesis doctoral. Universidad de Granada. España.
- Marinova G. K., Basheva S.E., Nenova B., Temelska M., Mirarefi Y.A., Campbell B., Ivanov B. I. (2009). Physico-chemical factors controlling the foamability and foam stability of milk proteins: sodium caseinate and whey protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 23, 1864–1876.
- McClements D.J. (2005). *Emulsions, principles, practices and techniques*. 2^a ed. CRC Press. USA.
- Mengual O., Meunier G., Cayre I., Puech K., Snabre, P. (1999). TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*, 50, 445–456.
- Meza B.E., Verdini R.A., Rubiolo A.C. (2009). Viscoelastic behaviour of heat-treated whey protein concentrate suspensions. *Food Hydrocolloids*, 23, 661–666.
- Mott R.L., Enríquez B. J. (2006). *Mecánica de fluidos*. 6^a ed. Pearson Educación, México.
- Muñoz M.E., Silva P.C.M. (1995). *Efecto de las propiedades reológicas de la fase continua en el rendimiento y estabilidad de espumas de proteínas estabilizadas con polisacáridos*. Tesis licenciatura. UNAM, México.
- Narsimhan G. (1990). Unsteady state drainage of a standing foam. Food emulsion and foam: theory and practice. (Wan P.J), Pp. 76-84. *American Institute of Chemical Engineering*, USA.

- Nicorescu I., Loisel C., Riaublanc A., Vial C., Djelveh G., Cuvelier G., Legrand J. (2009). Effect of dynamic heat treatment on the physical properties of whey protein foams. *Food Hydrocolloids*, 23, 1209–1219.
- NOM-155-SCFI-2003. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Norma Oficial Mexicana.
- Norde W. (2003). *Colloids and interfaces in life science*. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Novelo-Torres y Gracia-Fadrique (2005). Concentración micelar crítica mediante la ecuación de absorción de Gibbs. *Educación Química*, 16, (1), 63-74.
- Pérez A., Carrara R.C., Carrera-Sánchez, Santiago G.L., Rodríguez-Patino J.M. (2009). Interfacial dynamic properties of whey protein concentrate/polysaccharide mixtures at neutral pH. *Food Hydrocolloids*, 23, 1253–1262.
- Pitkowski A., Nicolai T., Durand D. (2009). Stability of caseinate solutions in the presence of calcium. *Food Hydrocolloids*, 23, 1164–1168.
- Radford J. S., Dickinson E., Golding M. (2004). Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and alcohol. *Journal of Colloid and Interface Science*, 274, 673-686.
- Raharitsifa N., Genovese B.D., Ratti C. (2006). Characterization of apple juice foams for foam-mat drying prepared with egg white protein and methylcellulose. *Journal of Food Science: Food Engineering and Physical Properties*, 71, (3), 142-151.
- Ramírez R. (1996). *Aplicación de propiedades reológicas y funcionales de los polisacáridos y proteínas en alimentos: aplicación de sustituto de albúmina de huevo en productos de panadería y confitería*. Tesis licenciatura. UNAM, México
- Rodriguez J.L. (2008). *Emulsiones y espumas. Sistemas coloidales en farmacia*. Universidad de Salamanca. España
- Rodríguez N. M., Carrera S.C., Rodríguez P.J. (2002). Efecto de la temperatura sobre películas de un aislado proteico del suero bovino (WPI) adsorbidas sobre la interfase aceite-agua. *Grasas y Aceites*, 53, (3), 340-351.
- Rojas-Cazares S., Delgado-Reyes V.A., Martínez-Padilla L.P. (2001). Efecto de la temperatura y concentración de sólidos solubles en la viscosidad de soluciones de sacarosa. *Anales de la escuela nacional de ciencias biológicas*. Disponible en: www.encb.ipn.mx/cibia/TomoI/I-83.pdf

- Rouimi S., Schorsch C., Valentini C., Vaslin S. (2005). Foam stability and interfacial properties of milk protein–surfactant systems. *Food Hydrocolloids*, 19, 467–478.
- Salger J.L. (1999). Conferencia presentada en las Jornadas del Grupo Formulación de la Sociedad Francesa de Química. Francia. Disponible en <http://www.sfc.fr>
- Schramm L.S. (2005). *Emulsions, foams and suspensions: fundamentals and applications*. Wiley-VCH. Germany.
- Sting E. (1997). *Food emulsions*. 3^a ed. Marcel Dekker, Inc. USA.
- Tosi E., Canna L., Lucero H., Ré E. (2007). Foaming properties of sweet whey solutions as modified by thermal treatment . *Food Chemistry*, 100, 794–799.
- Uscanga Hernández (2007). *Estudio de una emulsión o/w de una resina epoxi dispersa en agua mediante el uso de un copolímero tribloque*. Tesis: Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. Disponible en <http://itzamna.bnct.ipn.mx>
- Varham H.A., Surherland (1995). *Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología*. Acribia S.A. España.
- Vega M.C. (2006). Diseño de microestructura en crema batida. *Alimentaría*, edición noviembre/diciembre, 12-18. Disponible en www.alimentariaonline.com
- Zhang Z., Dalgleish D. G., Goff H. D. (2004). Effect of pH and ionic strength on competitive protein adsorption to air/water interfaces in aqueous foams made with mixed milk proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 34, 113-121.